

**EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI
BERAS OLEH *Monascus sp.* TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI JANTUNG PADA TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA**

SKRIPSI

Oleh:

WAHYU PUTRA NANDA

145130101111074



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI
BERAS OLEH *Monascus sp.* TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI JANTUNG PADA TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
WAHYU PUTRA NANDA
145130101111074



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI BERAS OLEH *Monascus sp.* TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI JANTUNG PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA

Oleh:

WAHYU PUTRA NANDA
145130101111074

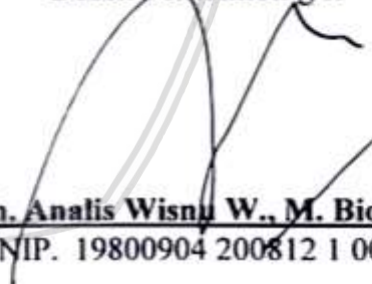
Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada 10 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I



Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

Dosen Pembimbing II



drh. Analis Wisnu W., M. Biomed
NIP. 19800904 200812 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wahyu Putra Nanda

NIM : 145130101111074

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Efek Terapi Angkak Hasil Fermentasi Beras oleh *Monascus sp.* Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Gambaran Histopatologi Jantung pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, makasaya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,

Yang menyatakan,



Wahyu Putra Nanda

NIM. 145130101111074

**EFEK TERAPI ANGKAK HASIL FERMENTASI BERAS OLEH
Monascus sp. TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDA
(MDA) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI JANTUNG
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL
HIPERKOLESTEROLEMIA**

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia merupakan suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol di dalam plasma darah melebihi kadar normal yang ditandai dengan meningkatnya kadar LDL, trigliserida, dan kolesterol total. Angkak dapat digunakan sebagai obat anti kolesterol karena mengandung lovastatin yang mampu menghambat HMG-CoA reduktase, yaitu enzim yang mengontrol jalur biosintesis kolesterol di dalam hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian angkak terhadap kadar malondialdehida (MDA) dan gambaran histopatologi jantung pada tikus model hiperkolesterolemia. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan usia 10-12 bulan dengan berat 150-200 gram. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok P1, P2, P3 terapi angkak dengan dosis 0,5 g/ekor/hr, 1 g/ekor/hr, dan 1,5 g/ekor/hr. Pemberian terapi dilakukan pada hari ke 15 setelah induksi pakan Hiperkolesterol. Kadar MDA diukur menggunakan metode TBA (*Thiobarbituric Acid*) dan gambaran histopatologi jantung dengan pewarnaan HE. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi angkak secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan kadar MDA. Pada terapi dosis 1 g/ekor/hari adalah dosis efektif dalam menurunkan kadar MDA sebesar 33,4 %. Gambaran histopatologi jantung menunjukkan adanya perbaikan kardiomyosit yang ditunjukkan dengan perubahan struktur kardiomyosit yang bergelombang dan tidak beraturan menjadi lebih baik seperti keadaan normal. Dapat disimpulkan bahwa terapi angkak mampu menurunkan kadar MDA dan memperbaiki gambaran histopatologi jantung pada tikus model hiperkolesterolemia.

Kata kunci: Hiperkolesterolemia, Angkak, *Monascus purpureus*, Jantung, MDA

**THERAPY EFFECT OF RED YEAST RICE FERMENTED BY
Monascus sp. ON MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVEL
AND HISTOPATHOLOGICAL APPEARANCE
OF HEART ON RATS (*Rattus norvegicus*)
HYPERCHOLESTEROLEMIA**

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition when cholesterol levels in blood plasma increased and exceeded the normal range marked by the increase of LDL, triglyceride and total cholesterol. Red yeast rice (angkak) could be used as an anti-cholesterol because it contains lovastatin that could inhibit the reductase of HMG-CoA, which is an enzyme that controls biosynthesis path of cholesterol in the liver. The purpose of this study was to find out the therapy effect of red yeast rice fermented by *Monascus sp.* on malondialdehyde (MDA) level and histopathological appearance of heart on rats (*Rattus norvegicus*) with hypercholesterolemia. The animals that were used consisted of male rats (*Rattus norvegicus*) age 10-12 months and weighed around 150 – 200 grams. The rats were divided into five groups, which are negative control group, positive control group, P1, P2 and P3 group that was given red yeast rice therapy with doses of 0.5 g/rat/day, 1 g/rat/day and 1,5 g/rat/day. The therapy was given on the 15th day after the induction of high cholesterol food diet. The MDA level was measured by TBA (*Thiobarbituric Acid*) method and histopathological appearance was stained by Hematoxylin-Eosin (HE). The result showed that red yeast rice significantly ($p < 0,05$) decrease MDA levels unit effective therapy dose of 1 g/rat/day up to 33,4% level of MDA. Histopathological image of heart showed a recovery of cardiomyocyte that marked by the changes of wavy and irregular cardiomyocyte structure to normal cardiomyocytes structure. The conclusion of this study was red yeast rice could decrease MDA levels and recover histopathological appearance of heart on hypercholesterolemia rats.

Keywords: Hypercholesterolemia, Red Yeast Rice, *Monascus purpureus*, Heart, MDA

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Efek Terapi Angkak Hasil Fermentasi Beras oleh *Monascus sp.* Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) dan Gambaran Histopatologi Jantung pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia**”. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya (FKH UB).

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES, selaku Pembimbing I atas segala bantuan, bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Analis Wisnu Wardhana, M. Biomed., selaku Pembimbing II atas segala bantuan, bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
3. drh. Ajeng Erika P.H., M.Si., dan Dhita Evi Aryani, S.Farm, Apt., sebagai dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran yang membangun.
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., selaku Dekan FKH UB atas kepemimpinan dan dukungan demi kemajuan FKH UB.
5. Bapak, Ibu, dan Adik-adikku tercinta yang terus memberikan doa, motivasi, kasih sayang, serta materi kepada penulis.
6. Syaiful, wahyu sonya, Ferna dan mak Rara selaku anggota kelompok penelitian yang telah berjuang bersama, trimakasih atas dukungan dan jerih payahnya.

7. Mela, Sonya, Mitra, Dena, Syaiful, windy, Bibin, Fais, Estilo terimakasih atas segala dukungan, bantuan, masukannya, jadi pendengar yang baik dan doa yang tidak akan terlupakan kepada penulis, juga hiburan yang diberikan kepada penulis.
8. Teman-teman DEER yang mengisi hari-hari penulis dengan candaan dan kekacauan,
9. Teman-teman Asisten Micronium yang tidak pernah lelah untuk meluangkan waktu di laboratorium.
10. Teman-teman seperjuangan Kolega FKH UB angkatan 2014 yang selalu memberikan bantuan tenaga dan pikiran.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini penulis merasa masih banyak kekurangan pada teknis penulisan maupun materi, mengingat akan kemampuan yang dimiliki penulis. Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga diharapkan dapat memberikan masukan dari berbagai pihak untuk penulisan yang lebih baik. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat karena pengalaman adalah guru terbaik.

Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Penyakit Hiperkolesterolemia.....	7
2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia.....	10
2.3 Jantung	11
2.4 Anatomi Jantung	11
2.5 MDA (<i>Malondialdehyde</i>).....	15
2.5.1 Hubungan Hiperkolesterol Terhadap Kadar MDA.....	16
2.6 Angkak.....	17
2.6.1 Kandungan Angkak.....	21
2.8 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Model Hiperkolesterolemia ...	23
 BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	 25
3.1 Kerangka Konseptual.....	25
3.2 Hipotesis Penelitian	28
 BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	 29
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	29
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	29
4.2.1 Alat Penelitian	29



4.2.2 Bahan Penelitian	29
4.3 Rancangan Penelitian	30
4.4 Variabel Penelitian	31
4.5 Prosedur Kerja	32
4.5.1 Persiapan Hewan Coba	32
4.5.2 Uji kadar antikolesterol (Lovastatin)	32
4.5.3 Pemberian Diet Pakan Hiperkolesterol	33
4.5.4 Pemberian Terapi Menggunakan Angkak.....	33
4.5.5 Pengambilan dan pengukuran kolesterol sampel darah	34
4.5.6 Pengambilan Jantung	34
4.5.7 Pembuatan preparat Jantung	35
4.6.8 Pengamatan Gambaran Histopatologi Jantung	36
4.5.9 Pengukuran Kadar MDA.....	36
4.5.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	36
4.5.9.2 Pembuatan Kurva Standar.....	36
4.5.9.3 Pengukuran Kadar MDA Organ Jantung Metode Thiobarbituric Acid (TBA)	37
4.6 Analisa Data	38
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	39
5.1 Efek Terapi Angkak Terhadap Kadar MDA (Malondialdehida) Organ Jantung Pada Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model Hiperkolesterolemia.....	39
5.2 Efek Terapi Angkak Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Jantung Pada Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model Hiperkolesterolemia.....	45
BAB 6 PENUTUP	53
6.1 Kesimpulan	53
6.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian	31
5.1 Nilai rata-rata kadar MDA organ Jantung.....	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Histopatologi Miokardium Jantung Tikus Hiperkolesterol	9
2.2 Anatomi Jantung	12
2.3 Lapisan Jantung.....	13
2.4 Histologi Otot Jantung Normal	14
2.5 Angkak atau <i>Red Mold Rice</i>	18
2.6 Pertumbuhan koloni <i>Monascus purpureus</i>	19
2.7 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	24
3.1 Kerangka Konsep.....	25
5.1 Histopatologi miokardium jantung dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) perbesaran 400X.....	45

LEMBAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Keterangan Kelaikan Etik	60
2. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian	61
3. Prosedur Pengujian Aktivitas Antikolesterol (Lovastatin)	62
4. Prosedur Pengambilan dan pengukuran kolesterol sampel darah	63
5. Prosedur Pemeriksaan Kadar Malondialdehida (MDA)	64
6. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi dengan Pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE)	65
7. Perhitungan kadar MDA	66
8. Uji Statistik Kadar MDA	67
9. Pengukuran kadar Lovastatin	70
10. Hasil Uji Kolesterol Total	72

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

%	: Persen
μl	: Microliter
α	: Alfa
°	: Derajat
O ₂	: Oksigen
ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
BB	: Berat Badan
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
HDL	: <i>Height Density Lipoprotein</i>
IDL	: <i>Intermediet Density Lipoprotein</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
cm	: Centimeter
TNF-α	: <i>Tumor Nekrosis Faktor Alfa</i>
HMG-KoA	: Hidroksimetilglutaril KoA
FKH	: Fakultas Kedokteran Hewan
L	: Liter
g	: Gram
kcal	: Kilokalori
kDa	: KiloDalton
MDA	: <i>Malondialdehida</i>
mm	: Milimeter
mg	: Milligram
nm	: Nanometer
mL	: Mililiter
THT	: Terhitung
TKR	: Terukur
NaCl	: Natrium klorida
NFKB	: <i>Nuclear Factor Kappa Beta</i>
PUFAs	: <i>Polyunsaturated fatty acid</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
rpm	: <i>Rotation per minutes</i>

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kolesterol merupakan salah satu lemak tubuh yang berada dalam bentuk bebas dan ester dengan asam lemak. Lemak yang dikonsumsi terdiri atas lemak jenuh dan lemak tidak jenuh. Karbohidrat dan lemak di dalam tubuh akan diproses menjadi suatu senyawa yang disebut asetil koenzim A. senyawa tersebut akan membentuk beberapa zat penting seperti asam lemak, trigliserida, fosfolipid dan kolesterol, sehingga apabila tubuh terlalu banyak mengkonsumsi makanan yang melebihi kebutuhan tubuh, maka jumlah trigliserida dan kolesterol akan meningkat (Dalimartha, 2001).

Hiperkolesterolemia merupakan keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol di dalam plasma darah yang melebihi kadar normal. (Guyton dan Hall, 2008). Keadaan tersebut merupakan gangguan metabolik yang bisa menyumbang dalam terjadinya berbagai penyakit terutama penyakit kardiovaskuler. Hiperkolesterolemia tidak hanya terjadi pada manusia saja namun juga dapat terjadi pada hewan peliharaan. Hiperkolesterolemia sering terjadi pada *pet animals* seperti kucing dan anjing, tingkat kasus keadaan tersebut sekitar 25% sampai 44% pada anjing di negara-negara barat (Price and Wilson, 2006), dan pada kucing tingkat kejadiannya sebesar 13% (Tapan, 2005). Menurut Schlesinger (2011), makanan seperti daging, hati, otak, jeroan, dan jenis makanan dengan kadar kolesterol tinggi yang diberikan pada hewan dalam *pet food*, dapat

menyebabkan terjadinya obesitas dan adanya peningkatan kadar kolesterol dalam tubuh.

Kondisi hiperkolesterolemia ditandai dengan meningkatnya kadar LDL pada tubuh. Pada kondisi hiperkolesterolemia akan terjadi peningkatan radikal bebas, dimana radikal bebas merupakan senyawa reaktif yang dapat merusak sel tubuh (Price and Wilson, 2006), apabila produksi radikal bebas terjadi berlebihan akan berakibat antioksidan dalam tubuh tidak mampu mengatasinya (wresdiyati and Astawan, 2005). MDA merupakan salah satu indikator dari radikal bebas, semakin tinggi radikal bebas pada suatu organ maka semakin tinggi kadar MDA (Luczaj and Elzbieta, 2003). Meningkatnya kadar kolesterol dan LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam darah dapat memicu terjadinya LDL-oks akibat radikal bebas pada pembuluh darah yang nantinya akan menuju ke jantung yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi dan mengakibatkan kerusakan pada sel endotel dan otot jantung (Muray *et al.*, 2003).

Pengobatan hiperkolesterolemia dengan obat sintetis banyak dipilih, karena memiliki efektifitas yang tinggi, namun harga obat tersebut masih terlalu mahal jika diterapkan kepada *pet animals*. Selain itu obat sintetis dapat menimbulkan ketergantungan bagi penggunanya, bila digunakan secara berkelanjutan dapat menimbulkan efek samping seperti gangguan fungsi ginjal, hati, dan nyeri sendi (Nafrialdi, 2007). Pencarian obat penurun kadar kolesterol darah yang berasal dari alam saat ini sedang giat dilakukan. Penggunaan obat-obat tradisional merupakan salah satu cara yang biasa digunakan sebagai obat alternatif

yang lebih aman, diantaranya adalah menggunakan fermentasi beras merah atau yang disebut angkak.

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa angkak mengandung zat yang mirip dengan obat statin yaitu salah satu zat yang disebut dengan lovastatin (Kasim *et al.*, 2006). Lovastatin merupakan senyawa obat yang terdapat di dalam angkak. Senyawa ini merupakan produk metabolit sekunder dari kapang *Monascus purpureus*. Lovastatin merupakan komponen bioaktif di dalam angkak yang dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Lovastatin mampu menghambat HMG-CoA reduktase (*Hydroxy-methyl-glutaryl Coenzyme A*), yaitu enzim yang mengontrol jalur biosintesis kolesterol di dalam hati (Katzung, 2004).

Penghambatan HMG-CoA reduktase akan mencegah pembentukan mevalonat dan kolesterol. Zat ini merupakan salah satu zat yang bersifat kompetitor kuat terhadap HMG-CoA-reduktase dalam mengontrol jalur biosintesis kolesterol. Selain itu, lovastatin berperan dalam meningkatkan reseptor LDL dalam hati, sehingga katabolisme kolesterol meningkat, yang mana hal itu akan meningkatkan penyerapan kolesterol LDL di membran sel dan terjadi peningkatan kadar HDL (Tisnadjaja, 2006). Penurunan kolesterol dalam darah akan menyebabkan jumlah radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme pembentukan kolesterol menurun, menyebabkan pembentukan LDL-oks menjadi lebih sedikit, sehingga pembentukan kadar MDA dan terjadinya kerusakan sel berkurang.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi pemberian angkak terhadap penurunan kadar DMA dan kerusakan gambaran histopatologi jantung

tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia, sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai obat alternatif dalam penyembuhan hiperkolesterol pada *pet animals*.

1.2 Rumusan Masalah

Dilihat dari latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

- 1) Apakah pemberian Angkak dari hasil fermentasi beras oleh *Monascus sp.* dapat menurunkan kadar MDA pada tikus putih (*Rattus norvegics*) model hiperkolesterolemia ?
- 2) Apakah pemberian Angkak dari hasil fermentasi beras oleh *Monascus sp.* dapat memperbaiki gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegics*) model hiperkolesterolemia ?

1.3 Batasan Masalah

Dilihat dari latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

- 1) Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Ratus norvegicus*) strain *Wistar* jantan, berumur 10-12 minggu, dengan berat 150-200 gram sebanyak 20 ekor, berasal dari peternakan Sumber Sekar Dau Malang. Penggunaan hewan model akan mendapat keterangan kelaikan etik dari Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Commite*) Universitas Brawijaya No:887-KEP-UB (**Lampiran 1**).

- 2) Pembuatan hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia dilakukan dengan pemberian pakan hiperkolesterol berupa minyak babi 2g, asam kholat 0,02 g, dan kuning telur puyuh rebus sebanyak 1 g, kemudian ditambahkan dengan air sebanyak 2 mL untuk 1 ekor tikus.
- 3) Tikus kemudian diuji kadar kolesterol total untuk mengetahui apakah sudah dalam keadaan hiperkolesterolemia (**Lampiran 10**).
- 4) Terapi yang diberikan berupa angkak hasil fermentasi beras oleh jamur *Monascus sp.* Sebanyak 20 ekor tikus putih jantan dengan berat sekitar 150-200 gram dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan. Kelompok P1, P2 dan P3 merupakan kelompok terapi yang diberikan diet pakan hiperkolesterol dan kemudian di terapi menggunakan angkak dengan dosis 0,5 g/ekor/hari, 1 g/ekor/hari, dan 1,5 g/ekor/hari, pemberian terapi dilakukan selama 14 hari.
- 5) Variabel yang diamati adalah kadar MDA yang diukur menggunakan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA), dengan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 530 nm (Aulanni'am *et. al.*, 2011), dan gambaran histopatologi jantung dengan metode pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) secara kualitatif diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX51.

1.4 Tujuan Penelitian

Dilihat dari latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1) Untuk mengetahui efek terapi pemberian Angkak dari hasil fermentasi beras oleh jamur *Monascus purpureus* dalam menurunkan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.
- 2) Untuk mengetahui efek terapi pemberian Angkak dari hasil fermentasi beras oleh jamur *Monascus purpureus* dalam menurunkan kerusakan gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan oleh penulis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pemanfaatan Angkak sebagai obat terapi hiperkolesterolemia dalam menurunkan kadar MDA dan kerusakan histopatologi jantung.
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai literatur di dunia kedokteran hewan dan pengembangan dalam memanfaatkan Angkak sebagai obat terapi hiperkolesterolemia pada *pet animals* yang mengalami Obesitas.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol di dalam plasma darah yang melebihi kadar normal. (Gyuton dan Hall, 2008). Keadaan tersebut bukanlah suatu penyakit melainkan gangguan metabolik yang bisa menyumbang dalam terjadinya berbagai penyakit terutama penyakit kardiovaskuler. Hiperkolesterolemia terjadi akibat adanya akumulasi kolesterol dan lipit pada dinding pembuluh darah yang ditandai dengan meningkatnya kadar LDL, trigliserida, kolesterol total, dan menurunnya kadar HDL (Herwiyarirasanta dan Eduardus, 2010). Hiperkolesterolemia sering terjadi pada *pet animal* seperti anjing, tingkat kasus keadaan tersebut sekitar 25% sampai 44% pada anjing di negara-negara barat dan merupakan salah satu faktor resiko utama terjadinya penyakit jantung koroner (PJK) dan atherosklerosis pada *pet animals* (Price and Wilson, 2006).

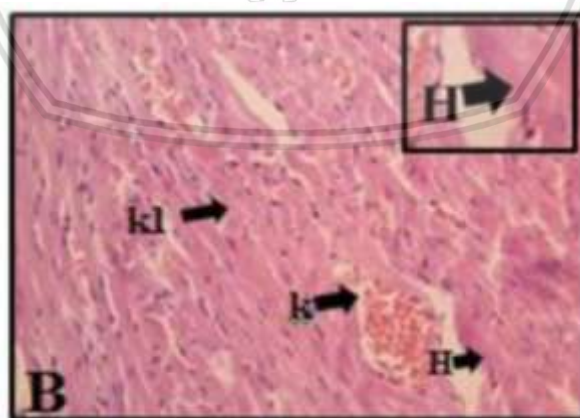
Menurut Schlesinger (2011), makanan seperti daging, hati, otak, jeroan, dan jenis makanan dengan kadar kolesterol tinggi yang diberikan pada hewan dalam *pet food*, dapat menyebabkan kenaikan jumlah kolesterol dalam tubuh. Keadaan hiperkolesterolemia pada hewan terjadi jika kadar kolesterol total dalam darah melebihi normal. Tikus memiliki kadar kolesterol total normal dengan nilai 10-54mg/dl (Harini, 2009). Keadaan hiperkolesterolemia menyebabkan kadar HDL dalam darah menurun. Kadar kolesterol HDL plasma darah tikus yang

normal yaitu ≥ 35 mg/dL (Hartoyo *et al.*, 2008). Hiperkolesterolemia juga mempengaruhi kenaikan kadar LDL dalam darah melebihi batas normal, sedangkan ambang batas normal LDL pada tikus adalah 7-27,2 mg/dL (Herwiyarirasanta, 2010).

Tingginya kadar kolesterol LDL dan rendahnya kadar kolesterol HDL dapat meningkatkan risiko aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler. Hal ini terjadi karena kolesterol LDL mudah teroksidasi sehingga dapat memicu terjadinya proses aterosklerosis (Krummel, 2008). Peningkatan kadar kolesterol atau hiperkolesterolemia dapat mengganggu dan mengubah struktur pembuluh darah yang mengakibatkan gangguan fungsi endotel seperti terjadinya plak, oklusi, lesi, dan emboli. Selain itu juga peningkatan kolesterol juga bertanggung jawab atas terjadinya peningkatan stress oksidatif (Stapleton *et al.*, 2010). Ketika kadar kolesterol sangat tinggi dalam darah hal itu akan memicu terjadinya stress oksidatif yang di akibatkan oleh ketidakseimbangan jumlah antioksidan baik yang berupa enzim endogen maupun antioksidan dari diet dengan jumlah prooksi dan menyebabkan overproduksi radikal bebas (Duarte *et al.*, 2010). Hiperkolestetolemia dalam jangka panjang akan mengakibatkan terjadinya *reactive oxygen species* (ROS) dan akan muncul radikal – radikal bebas yang dapat meningkatkan stress oksidatif. Produksi ROS yang meningkat dapat mendegradasi lemak tak jenuh ganda yang nantinya membentuk MDA (Daniels *et al.*, 2009).

Hiperkolesterolemia mengacu pada peningkatan kadar lipid dan kolesterol dalam darah yang menggambarkan manifestasi dari gangguan metabolisme

lipoprotein. Lipoprotein yang paling tinggi kadar kolesterolnya adalah *low density lipoprotein* (LDL) yang apabila kadarnya di dalam serum tinggi menjadi faktor predisposisi terbentuknya ateroma. Kadar kolesterol LDL yang tinggi merupakan penyebab utama terjadinya jejas pada lapisan endotel dan kardiomiosit (Tomkin & Daphne, 2012). Tingginya kadar LDL dalam darah mengakibatkan molekul LDL teroksidasi dan terbentuknya lipid peroksida yang memicu munculnya sitokin proinflamasi kemudian akan menginduksi INOS (*Inducible Nitric Oxyde Synthase*) dalam miosit. Peningkatan jumlah NO (*Nitric Oxide*) pada jantung diketahui akan menyebabkan kerusakan miokardium (Hussain et. al., 2007). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Natasya, 2014) didapatkan pada kelompok dengan diet tinggi lemak terjadi perubahan gambaran histologi jantung (**Gambar 2.1**) yang ditandai dengan perubahan struktur kardiomiosit tidak beraturan yang merupakan tahap awal terjadinya nekrosis, dan hipertrofi yang ditandai adanya penebalan miosit.



Gambar 2.1 Histopatologi miokardium jantung tikus Hiperkolesterol dengan pewarnaan HE perbesaran 400X. kardiomiosit bergelombang (kl), kongesti (k) dan Hipertrofi (H) (Natasya, 2014).

Sel yang nekrosis secara mikroskopik terjadi perubahan inti (nukleus) dimulai dari terjadinya piknosis yang merupakan tahap awal kematian sel yang ditandai dengan inti menyusut, menjadi padat, batas tidak teratur dan berwarna gelap, tahap berikutnya adalah karioereksi dimana inti sel hancur dan meninggalkan pecahan-pecahan kromatin yang tersebar dalam sel, dan tahap terakhir adalah kariolisis dimana inti sel yang mati akan menghilang (Ferrari, 2009).

2.2 Patomekanisme Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia dapat disebabkan oleh diet tinggi kolesterol. Kolesterol, kolesterol ester, trigliserida, dan fosfolipit yang masuk melalui asupan makanan akan diserap oleh usus dan diubah dalam bentuk kilomikron. Kilomikron merupakan lipoprotein yang mengangkut lipid dari penyerapan dalam usus. Kemudian kilomikron tersebut dibawa menuju ke hati dan terhidrolisis menjadi HDL dan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). VLDL selanjutnya dibawa oleh sistem sirkulasi tubuh menuju ke jaringan, didalam pembuluh darah kandungan trigliserida dalam VLDL dihidrolisis oleh enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) membentuk asam lemak dan gliserol. Sisa dari VLDL dapat disebut sebagai IDL dan kemudian terhidrolisis lebih lanjut menjadi LDL (*Low Density Lipoprotein*) (Murray *et al.*, 2003).

LDL merupakan lipoprotein yang memiliki kandungan kolesterol paling tinggi dibandingkan dengan lipoprotein yang lain dan bertugas untuk mengedarkan kolesterol ke sel sel jaringan melalui darah untuk digunakan di dalam sel. kelebihan LDL dibawa kembali oleh HDL ke hepar untuk disekresikan

menjadi asam empedu. Pada kondisi hiperkolesterolemia jumlah sisa LDL yang tidak masuk ke dalam sel menjadi berlebih dalam darah akibat banyaknya kolesterol yang masuk melalui makanan sehingga tidak mampu dibawa oleh HDL menuju hepar untuk dimetabolisme (Baigent dan Clark, 2008).

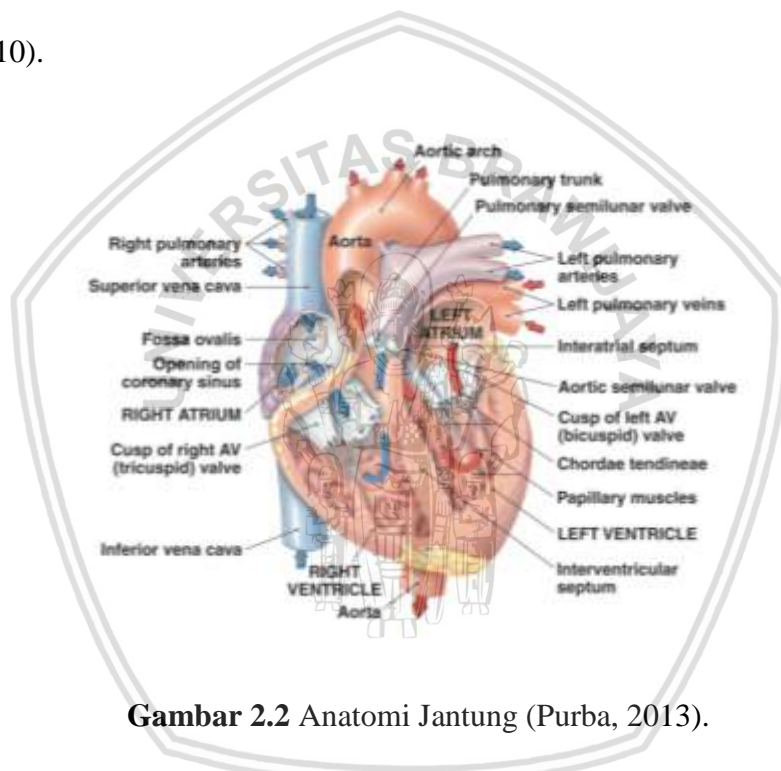
2.3 Jantung

Jantung merupakan organ penting dalam tubuh yang berfungsi sebagai pemompa darah untuk mengedarkan oksigen, nutrien, dan hormon ke seluruh tubuh serta mengangkut sisa hasil metabolisme dari seluruh tubuh seperti karbondioksida, asam urat dan ureum untuk diekskresikan. Jantung dalam menjalankan tugasnya sebagai alat pemompa darah dapat berkontraksi dan berileksasi. Proses kontraksi dan relaksasi pada jantung dikenal dengan denyut jantung. Denyut jantung terjadi ketika ruang jantung mengendur dan terisi darah (diastole), kemudian jantung mengalami kontraksi dan memompa darah keluar dari ruang jantung (sistole) (Cochran, 2011).

2.4 Anatomi Jantung

Tikus putih merupakan jenis mamalia yang jantungnya terdiri dari empat ruang yaitu dua atrium, dan dua ventrikel (**Gambar 2.2**). Dinding pada bagian ventrikel lebih tebal dan kuat dibandingkan dengan dinding dari atrium, hal itu dikarenakan bagian ventrikel kiri digunakan untuk memompakan darah keluar dari jantung ke seluruh organ tubuh melalui sirkuit sistemik (Campbell, 2004). Ukuran jantung pada tikus putih adalah sekitar 2 cm dengan lebar sekitar 1 cm. Jantung tikus terletak di sebelah kiri dan berada pada tulang rusuk ke 3 sampai ke

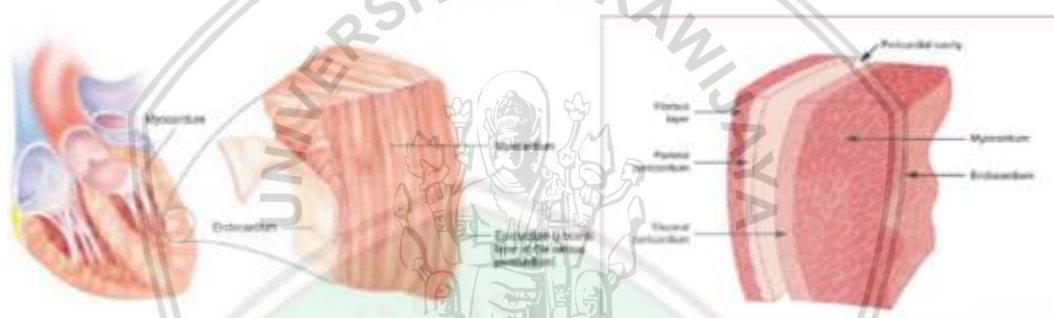
6 (Girman *et al.*, 2015). Jantung juga memiliki empat katup yang terdiri dari : katup bikuspidalis, katup aorta, katup pulmonaris, dan katup trikuspidalis. Katup bikuspidalis tempatnya diantara atrium kiri dan vebtrikel kiri. Katup trikuspidalis berada diantara atrium kanan dan vntrikel kanan. Katup pulmonaris adalah katup yang lokasinya berdada diantara ventrikel kanan dan arteri pulmonalis, sedangkan katup aorta merupakan katub yang berada diantara ventrikel kiri dan aorta (Ronny dkk., 2010).



Gambar 2.2 Anatomi Jantung (Purba, 2013).

Jantung memiliki tiga lapisan yang terdiri dari perikardium, miokardium dan endokardium (**Gambar 2.3**). Perikardium merupakan lapisan terluar yang menyelubungi jantung yang berfungsi untuk memberi dan menjaga bentuk jantung, melindungi jantung dan mencegah pemasukan darah berlebih pada jantung. Miokardium merupakan lapisan tengah jantung yang tersusun atas otot-otot longitudinal dan sirkuler yang berfungsi sebagai pemompa darah ke seluruh tubuh (Ronny dkk., 2010). Endokardium merupakan lapisan dalam pada jantung

yeng berfungsi untuk melindungi bagian rongga jantung dan katup-katup yang berada di dalamnya. Endokardium membatasi permukaan dalam atrium dan ventrikel. Lapisan ini terdiri dari lapisan sel – sel endotel yang gepeng berbentuk poligonal, terletak di atas lamina basalis yang tipis serta kontinyu. Lapisan ini mengandung pembuluh darah, saraf, dan cabang – cabang sistem penghantar ke jantung, bercampur dengan jaringan lemak. Endokardium merupakan bagian dalam jantung yang berfungsi melindungi rongga jantung dan katup-katup (Susilaningsih, 2006).

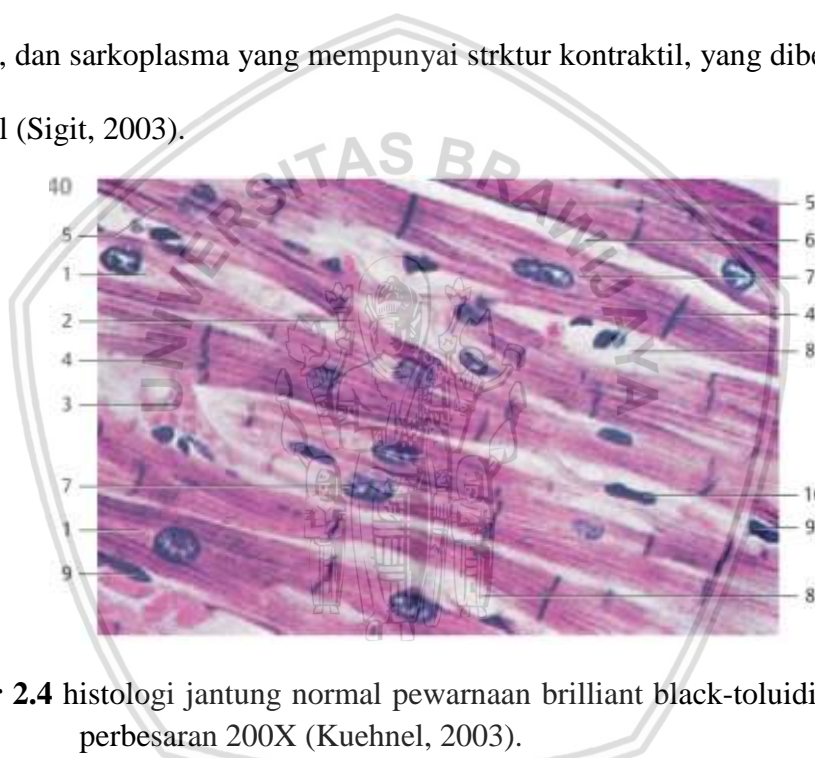


Gambar 2.3 Lapisan Jantung (Susilaningsih, 2006).

Tipe otot jantung miokardium terdiri atas otot atrium, otot ventrikel, dan serat otot khusus penghantar dan pencetus rangsangan. Otot atrium dan ventrikel berkontraksi dengan cara yang sama seperti otot rangka. Serat otot khusus penghantar dan pencetus rangsangan berkontraksi lemah sekali karena hanya mengandung sedikit serat kontraktif. Serat tersebut menghambat irama dan berbagai kecepatan konduksi, sehingga bekerja sebagai sistem pencetus rangsangan bagi jantung (Ronny dkk., 2010).

Otot jantung kaya akan mitokondria yang jumlahnya sekitar 25 - 35% dari sel jantung sehingga resisten terhadap kelelahan. Bagian jaringan jantung yang

normal menunjukkan serat otot berbentuk silinder, serta tersebut memanjang dengan inti vesikula berbentuk oval atau lonjong (**Gambar 2.4**). Beberapa jaringan ikat terletak diantara serat otot jantung dan terdapat pembuluh darah. Serat otot jantung memiliki beberapa ciri yang hampir sama dengan otot rangka (lurik), namun secara fisiologis bekerja seperti otot polos. Sel otot jantung (myocyte) memiliki inti vesikula berbentuk oval terletak di tengah dengan dua atau lebih anak inti, dan sarkoplasma yang mempunyai strktur kontraktil, yang dibentuk oleh myofibril (Sigit, 2003).



Gambar 2.4 histologi jantung normal pewarnaan brilliant black-toluidin safranin perbesaran 200X (Kuehnel, 2003).

Keterangan : 1. ruang perinuklear, 2. Percabangan kardiomiosit, 3. Vena dengan eritrosit, 4. diskus intercalares, 5. Jaringan lamella, 6. jaringan ikat interstisial, 7. nucleus sel otot jantung, 8. Kapiler, 9. Inti endotel, 10. Inti dari suatu fibrosit.

Otot jantung jika dipotong secara melintang akan terlihat adanya myofibril yang mengandung filamen aktin dan miosin, yang dapat membedakan otot jantung dengan otot-otot yang lain adalah adanya diskus interkulatus. Diskus interkalatus berfungsi dalam menyampaikan informasi kepada setiap otot jantung

untuk dapat bekerja sama secara teratur atau secara berkesinambungan (Ronny dkk., 2010).

2.5 MDA (*Malondialdehyde*)

Malondialdehyde (MDA) merupakan hasil pemecahan lipid peroksida pada membran sel dan merupakan salah satu penanda stres oksidatif. Lipid peroksida adalah hasil reaksi oksidasi radikal bebas dengan lipid membran sel jaringan tubuh atau dengan asam lemak tak jenuh (Suwandi, 2012). Stres oksidatif tersebut terjadi antara reaksi radikal bebas (radikal hidroksil) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* atau PUFA pada membran sel. Reaksi tersebut terjadi secara berantai dan akan menghasilkan produk berupa hydrogen peroksida. Hydrogen peroksida tersebut menyebabkan perubahan beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel, salah satunya adalah MDA (Edyson, 2003). MDA merupakan produk peroksidasi lipid yang relatif konstan terhadap proporsi peroksidasi lipid, oleh karena itu merupakan indikator yang tepat untuk mengetahui kecepatan (rate) proses peroksidasi lipid in vivo. MDA adalah salah satu marker radikal bebas dalam tubuh (Matsuzaki, 2009).

Kadar MDA di dalam jaringan maupun dalam plasma dapat ditentukan dengan menggunakan metode *Thiobarbituric Acid* (TBA). Metode *Thiobarbituric Acid* (TBA) menggunakan teknik kolorimetri dengan melihat perubahan warna. Pengamatan yang lebih spesifik dapat menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) atau Spektrofotometer karena memenuhi kriteria seperti akurasi, spesifitas, dan sensitivitas yang tinggi, sehingga hasil amatan yang

diperoleh bias secara maksimal. Metode tersebut merupakan pilihan yang baik untuk evaluasi status stress oksidatif. Uji kadar malondialdehid didasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan 2 molekul asam 2-*Thiobarbituric* pada kondisi asam. Reaksi kompleks dari kedua molekul tersebut menghasilkan pigmen berwarna merah muda – merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm. Intensitas warna merah muda yang terbentuk dari kondisi MDA-TBA mengindikasikan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Edyson, 2003).

2.5.1 Hubungan Hiperkolesterol Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehyde*)

Hiperkolesterol adalah suatu keadaan yang terjadi akibat peningkatan kadar kolesterol melebihi batas normal dalam darah. Tubuh berusaha menyeimbangkan kadar kolesterol plasma dengan jalan mengubah kolesterol menjadi asam empedu. Peningkatan sintesis asam empedu menghasilkan radikal bebas sebagai hasil sampingan dan berikatan dengan lipid (Evans dan Cooke, 2006). Hiperkolestetolemia dalam jangka panjang akan mengakibatkan terjadinya *reactive oxygen species* (ROS) dan memicu terbentuknya radikal – radikal bebas, sehingga terjadinya peningkatan jumlah radikal bebas didalam tubuh (Valko *et al.*, 2006).

Radikal bebas merupakan suatu molekul atom yang mengandung elektron tidak berpasangan, yang memiliki sifat tidak stabil dan merusak sel dengan mengambil satu atom hidrogen dari molekul lain tubuh. Radikal bebas berada dalam tubuh melalui metabolisme sehari-hari dan akan diubah menjadi substansi atau zat yang tidak berbahaya bagi tubuh, seperti H_2O dan CO^2 . Namun apabila

jumlah radikal bebas melebihi batas dari proteksi antioksidan dalam tubuh, kemudian bertemu dengan asam lemak tidak jenuh ganda maka akan terjadi peroksidasi lipid, yaitu reaksi berantai oksidasi lipid oleh radikal bebas (Kusumastuty, 2014).

Proses terjadinya peroksidasi lipid dimulai dari ion hidrogen pada rantai samping (*Polyunsaturated Fatty Acid* atau PUFA) penyusun membran sel oleh radikal bebas, membentuk radikal karbon. Radikal karbon akan teroksidasi membentuk radikal peroksil. Selanjutnya radikal peroksil akan menarik lagi ion H^+ pada rantai samping PUFA yang berdekatan dan membentuk peroksidasi lipid. Proses ini merupakan reaksi berantai, karena peroksidasi lipid akan menarik lagi ion H^+ pada rantai samping PUFA yang lain, sampai akhirnya rantai PUFA terputus menjadi senyawa-senyawa lain seperti hidrokarbon, 5-hidroksinonenal dan senyawa-senyawa aldehyd (Pribadi dan Dwi, 2010). Reaksi peroksidasi lipid pada akhirnya akan menghasilkan senyawa aldehyda salah satunya adalah MDA (malondialdehyde) yang biasa digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stres oksidatif (Kusumastuty, 2014).

2.6 Angkak (*red fermented rice*)

Angkak merupakan produk fermentasi beras menggunakan kapang *Monascus sp.* yang Berasal dari negara China. Angkak dikenal sebagai *red fermented rice* atau *red yeast rice* atau beras merah (**Gambar 2.5**). Beberapa spesies kapang yang digunakan untuk memproduksi angkak, diantaranya adalah *Monascus purpureus*, *Monascus pilosus*, dan *Monascus Anka*. Pembuatan angkak

di Cina pertama kali dilakukan pada masa pemerintahan Dinasti Ming yang berkuasa pada abad 14-18. Di Cina, angkak digunakan sejak berabad-abad yang lalu, baik untuk kepentingan bahan pangan maupun obat-obatan. Pigmen warna utama yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada fermentasi angkak adalah monaskorubrin dan monaskoflavin. Angkak juga mengandung pigmen lovastatin (Kasim et al. 2005).



Gambar 2.5 Angkak atau *Red Mold Rice* (Shieh et al., 2008)

Monascus sp termasuk dalam *classis Ascomycetes*, khususnya familia Monascaceae. Genus *Monascus* memiliki empat spesies, yaitu: *Monascus pilosus*, *Monascus purpureus*, *Monascus ruber*, dan *Monascus floridanus*. Jamur *Monascus purpureus* adalah salah satu spesies jamur yang berwarna merah keunguan. Jamur ini juga dikenal dengan jamur beras ang-khak atau jamur silase jagung. *Monascus purpureus* tidak banyak ditemukan di alam, sebagian besar ditemukan pada produk makanan. Mikrobia ini menghasilkan warna yang khas. propagulnya tipis, tumbuh menyebar dengan miselium yang berwarna merah atau ungu, dapat dilihat pada **Gambar 2.5**, namun menjadi keabu-abuan jika konidia sedang tumbuh. Setelah fase pertumbuhan miselium berubah menjadi berwarna merah keunguan dan tumbuh dengan baik pada suhu 27-32⁰C (INPR, 2006).



Gambar 2.6 Pertumbuhan koloni *Monascus purpureus* (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006)

Klasifikasi dan morfologi *Monascus purpureus* menurut Rahayu (1993).
jamur *Monascus purpureus* diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisio	: Amastigomycotina
Sub Divisio	: Ascomycotina
Classis	: Ascomycetes
Sub Classis	: Plectomycetidae
Ordo	: Eurotiales
Familia	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Monascus</i>

Monascus mampu memproduksi pigmen kuning dari monascin dan ankaflavin, pigmen jingga dan merah dari rubropungtamine dan monascorubin, pigmen rubropunctatin dan monascorubramin (Permana, 2004).

M. purpureus memiliki kemampuan untuk menghasilkan cairan granular melalui ujung hifa. Pada saat jamur masih muda, cairan yang dikeluarkan masih tidak berwarna tetapi cairan tersebut secara perlahan-lahan mulai berubah menjadi

kekuning-kuningan atau merah orange (Ma *et al.*, 2000). Produksi pigmen merah tersebut tidak hanya pada cairan yang dikeluarkan tetapi juga pada bagian dalam hifa. Warna merah tersebut mampu mendifusikan kedalam substrat. Warna merah tersebut terdiri dari dua macam pigmen yang merah monascorubrin ($C_{23}H_{24}O_5$) dan kuning yaitu monascoflavin ($C_{17}H_{22}O_4$) (Permana, 2004).

Secara tradisional, pembuatan angkak umumnya dilakukan dengan menggunakan beras sebagai substrat, melalui sistem fermentasi padat. Berbagai varietas beras dapat digunakan sebagai medium pertumbuhan kapang *M. purpureus*. Beras pera dengan intensitas amilosa yang tinggi dan amilopektin yang rendah merupakan substrat yang baik untuk pembuatan angkak dan kandungan lovastatinnya. Beras mempunyai kandungan amilosa yang berkaitan erat dengan tingkat kepulenannya. Beras dengan struktur lengket atau ketan mempunyai intensitas amilosa yang sangat rendah (<9%), beras yang sangat pulen mempunyai kandungan amilosa yang rendah (9-20%), beras struktur pulen berintensitas amilosa tinggi (20-25%), sedangkan beras pera memiliki intensitas amilosa yang lebih tinggi yakni 25-30%. Kandungan protein pada beras umumnya berkisar antara 6- 10% (Wiyoto, 2011). Di samping itu beras juga mengandung vitamin B1, fosfat, kalium, asam amino, dan garam zinc. Kandungan senyawa-senyawa ini dapat mempengaruhi produksi pigmen. Khusus untuk asam amino, methionine merupakan asam amino essensial bagi biosintesis lovastatin karena merupakan prekursor langsung (Stocking dan Williams, 2003).

Pertumbuhan jamur *Monascus* menjadi indikator kunci dalam sintesis metabolit pigmen dan lainnya. Selama tahap pertama periode fermentasi, jamur

memanfaatkan sumber karbon dan nitrogen dari substrat untuk metabolit primer, biokonversi, energi, karbon dioksida, dan air. Pada tahap terakhir, jamur menggunakan produk yang dihasilkan pada tahap pertama untuk memproduksi metabolit sekunder. Oleh karena itu, metabolit sekunder, seperti pigmen, citrinin dan mevinolin dapat dideteksi setelah tahap pertama dari pertumbuhan jamur berakhir. Dari beberapa penelitian banyak faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produksi pigmen diantaranya adalah pH, suhu, kelembaban media. Kondisi pH optimal untuk pertumbuhan dan pembentukan pigmen adalah sekitar 4-7 (Carvalho *et al*, 2005). Pertumbuhan jamur *monascus* biasanya terjadi pada suhu minimum 15-18°C dan maksimum pada suhu 45°C dimana produksi pigmennya berbeda-beda setiap spesies dan kondisi fermentasi. Sedangkan untuk suhu optimal bagi pembentukan pigmen adalah suhu 27°C. Salah satu faktor yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan, jenis dan jumlah pigmen yang dihasilkan adalah jumlah nutrisi organik, logam dan mineral di dalam medium sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan pembentukan pigmen oleh *monascus* (INPR, 2006).

2.6.1 Kandungan Angkak

Strain ragi *Monascus* yang secara alami menghasilkan zat yang dapat menghambat sintesis kolesterol, yaitu monacolin K (juga dikenal sebagai mevinolin). Monacolin K adalah golongan 8 monacolin-related substances yang dapat menghambat 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase (Tisnadjaja, 2006). Selain inhibitor HMG-CoA reduktase, angkak juga mengandung sterol (beta-sitosterol, campesterol, stigmasterol, dan sapogenin),

isoflavon, glikosida isoflavon, dan asam lemak tak jenuh seperti asam dimerumat yang dapat berperan dalam menghambat pelepasan ROS akibat adanya stress oksidatif (Aniya, 2000).

Lovastatin merupakan senyawa obat yang terdapat di dalam angkak. Senyawa ini merupakan produk metabolit sekunder dari kapang *Monascus purpureus*. Lovastatin merupakan komponen bioaktif di dalam angkak yang dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Lovastatin mampu menghambat sintesis Very Low Density Lipoprotein (VLDL) di hati. VLDL adalah prekursor Low Density Lipoprotein (LDL). Penghambatan sintesis VLDL secara otomatis akan menurunkan jumlah LDL (Kasim *et al.*, 2005). Saat ini, angkak diakui sebagai makanan fungsional karena beberapa metabolit sekundernya terbukti bermanfaat, seperti asam monakolin (agen penurun kolesterol), asam-gamma aminobutirat (agen hipotensif), azaphilone pigments (zat antiinflamasi), asam dimerumat, tanin, asam lemak tak jenuh dan fenol (antioksidan). Monacolin K, juga dikenal sebagai lovastatin merupakan monakolin utama di dalam angkak (Chen WP, 2008).

Komponen pigmen yang dihasilkan oleh kapang *M. purpureus* adalah rubropunktatin (merah), monaskorubin (merah), monaskin (kuning), ankaflavin (kuning), rubropunktamin (ungu), dan monaskorubramin (ungu). Pembentukan pigmen ini dipengaruhi oleh konsentrasi glukosa dan etanol, pH, fosfor, dan nitrogen dalam substrat (Erdougrul, 2004). Pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus* ini tidak bersifat toksik dan tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh (Kasim *at al.*, 2005).

2.7 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterol

Hewan coba merupakan hewan yang sengaja dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model dalam berbagai bidang ilmu penelitian atau pengamatan laboratorik. Hewan model hiperkolesterol merupakan hewan coba yang memiliki kadar kolesterol darah melebihi batas normalnya (Murray *et al.*, 2003). Tikus memiliki kadar kolesterol total normal dengan nilai 10-54mg/dl (Harini, 2009).

Menurut Sirois (2005) yang menyatakan bahwa tikus (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba karena mudah dipelihara dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Ciri-ciri morfologi tikus (*Rattus norvegicus*) antara lain memiliki kepala besar, ekor yang pendek, memiliki berat 150-200 gam, panjang tubuh 18-25 cm, kepala dan telinga berukuran 20-23 mm (**Gambar 2.7**). Taksonomi tikus (*Rattus norvegicus*) menurut Sirois (2005) adalah:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Sub ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub famili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



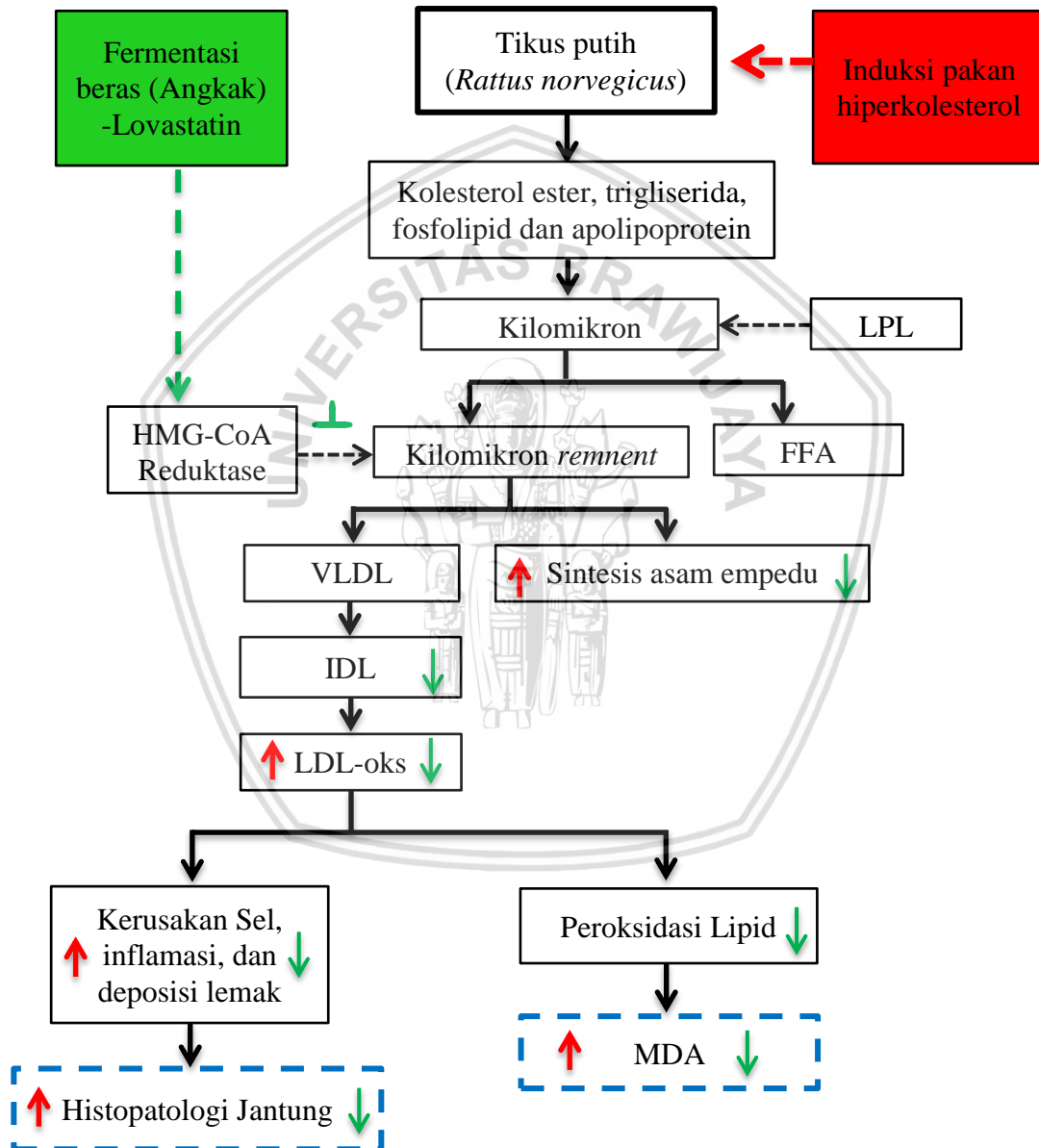
Gambar 2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Sirois, 2005).

Morfologi pada tikus putih yaitu bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, memiliki telinga yang tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata berwarna merah muda, ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang panjang. Berat badan tikus jantan yang berumur 12 minggu mencapai 240 gam, sedangkan berat badan tikus betina mencapai 200 gam (Sirois, 2005). Tikus putih jantan sering digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian karena dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil, hal itu dikarenakan tikus jantan tidak dipengaruhi oleh keberadaan siklus reproduksi seperti pada tikus betina. Kadar estrogen yang tinggi pada tikus betina dapat mempengaruhi metabolisme kolesterol plasma (Fauzana, 2015).

Pembuatan hewan coba hiperkolesterolemia dilakukan dengan pemberian pakan tinggi kolesterol, pakan tersebut terdiri dari minyak babi 10%, kuning telur puyuh 5% dan asam kholat 0,1%. Pakan hiperkolesterol tersebut diberikan kepada tikus coba selama 14 hari. Pakan yang mengandung tinggi kolesterol akan menyebabkan terganggunya metabolisme kolesterol didalam tubuh karena kolesterol akan menumpuk di hati (Gani dkk, 2013).

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep.

Keterangan :

	: Variabel terikat		: Penurunan		: Induksi
	: Hewan Coba		: Peningkatan		: Patomekanisme
	: Variabel bebas		: Terapi		: Menghambat
	: Paparan		: Menstimulasi		

Pemberian pakan tinggi kolesterol selama 14 hari menyebabkan kadar kolesterol dan trigliserida dalam tubuh meningkat, sehingga menyebabkan terjadinya keadaan hiperkolesterolemia. Kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan apolipoprotein kemudian diubah dalam bentuk kilomikron. Kilomikron mengalami penguraian oleh enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) sehingga membentuk asam lemak bebas (*Free Fatty Acid* atau FFA) dan kilomikron *remnant*.

Kilomikron *remnant* dan kolesterol yang disintesis oleh hati akan diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL kedalam darah. VLDL akan mengalami hidrolisis oleh enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) sehingga membentuk IDL dan mengalami pemecahan lebih lanjut menjadi LDL. Dalam kondisi hiperkolesterolemia tubuh berusaha menyeimbangkan kolesterol plasma dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu, semakin banyak asam empedu yang disintesis, maka dapat meningkatkan proses oksidasi, sehingga menghasilkan produk samping berupa radikal bebas atau ROS dan menyebabkan terjadinya stress oksidatif.

Partikel LDL akan masuk ke dalam miokardium dengan cara menembus lapisan pericardium melalui sel-sel endotel. Sel endotel kemudian mengalami kerusakan dan menyebabkan terjadinya deposisi lemak atau masuknya LDL (lemak jahat) dalam miokardium yang kemudian menstimulasi aktivitas dari sel neutrofil, dan sel monosit. Sel – sel tersebut akan menempel pada sel endotel di dalam jaringan jantung mengalami infiltrasi menjadi makrofag. Makrofag akan menginisiasi munculnya sitokin proinflamasi seperti interleukin-1(IL-1), dan *Tumor Nekrosis Faktor Alfa* (TNF- α) yang memicu terjadinya inflamasi dalam jaringan jantung, inflamasi yang berkepanjangan akan menyebabkan adaptasi sel dan perubahan gambaran histopatologi sel otot jantung.

Partikel LDL yang masuk akan teroksidasi oleh radikal bebas yang terdapat pada jantung menjadi LDL-oks, keadaan tersebut akan memicu terjadinya peroksidasi lipid pada sel jantung. Peroksidasi lipid merupakan hasil reaksi oksidasi radikal bebas pada rangkaian LDL-oks dengan PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) atau lipid pada membran sel jaringan tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel tersebut. Reaksi peroksidasi lipid akan menghasilkan senyawa aldehida salah satunya adalah MDA (*Malondialdehyde*) yang digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stres oksidatif.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam terapi hiperkolesterolemia adalah dengan menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Angkak yang merupakan hasil fermentasi beras oleh jamur *Monascus purpureus*, memiliki kandungan senyawa lovastatin yaitu senyawa yang dapat menurunkan kolesterol dari golongan statin. Senyawa lovastatin ini mampu menghambat HMG-CoA

Reduktase, yaitu enzim yang sangat diperlukan untuk sintesis kolesterol. Lovastatin akan berikatan dengan HMG-CoA Reduktasi dalam hati, sehingga HMG-CoA reduktase tidak berikatan dengan substrat (HMG-CoA) dan laju pembentukan mevalonat yang merupakan prekursor kolesterol dari HMG-CoA akan terhambat.

Penghambatan kerja enzim tersebut juga mempengaruhi pembentukan reseptor kolesterol LDL di membran sel, yang mana akan meningkatkan penyerapan kolesterol LDL di membran sel. Penurunan kolesterol dalam darah akan menyebabkan jumlah radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme kolesterol menurun, sehingga kadar MDA dan kerusakan sel berkurang.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang sudah ada, maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut :

1. Pemberian terapi Angkak dapat menurunkan kadar MDA pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.
2. Pemberian terapi Angkak dapat memperbaiki gambaran histopatologi otot jantung pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2018 sampai bulan April 2018 di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Parasitologi, Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Lake SIMA Malang.

4.2 Alat dan bahan

4.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah kandang tikus berupa bak plastic dan penutup kandang dari jarring kawat, botol minum tikus, tempat pakan, alat sonde, *dissecting set*, papan bedah, alas bedah, spuit 1 mL, 3 mL dan 5 mL, Mikrohematokrit, mortar, labu takar, pipet, autoklaf, alat pengering, *hot plate*, erlenmeyer, pengaduk, gelas ukur, tabung reaksi, *vortex*, incubator, timbangan analitik atau timbangan digital, objek glass, cover glass, cawan petri, *centrifuge*, spektrofotometer UV-Vis, HPLC, mikroskop cahaya (*Olympus Bx51*), Pot organ.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan dengan umur 10-1 minggu dengan berat badan rata-rata 150-200 gram, 1 mL NaCl 0,9 %, serbuk angkak, pakan strandart, pakan hiperkolesterol (asam kholat, minyak babi, dan kuning telur puyuh rebus),

aquades. Pengukuran kadar kolesterol dengan metode CHOD-PAP (cholesterol oxidase-p-aminophenazone) menggunakan kit dari Human. Uji antikolesterol dengan menggunakan metanol, aquabidest, asam phormiat, acetonitril, sebagai fase gerak. Asam fosfat, acetonitril untuk mengekstrak angkak. alkohol dengan konsentrasi bertingkat 80%, 90%, 95%, 100%, xylol, paraffin, pewarna HE

4.3 Rencana Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rencana Acak Lengkap (RAL), dipergunakan apabila media yang dipergunakan dalam penelitian sama atau dianggap seragam (Kusriningrum, 2008). Kemudian dilakukan analisis statistic *One Way Analysis of Variant (One Way ANOVA)* dan dilakukan analisis lebih lanjut dengan uji beda nyata juur (BNJ) atau uji *Tukey* dengan taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$ (5%). Pengukuran parameter aktivitas senyawa MDA jantung dilakukan *post test only control grop*. Rancangan kelompok penelitian dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Rancangan kelompok penelitian.

Kelompok	Keterangan	Variabel yang diamati	
		Kadar MDA	Histopatologi jantung
K- (Kontrol Negatif)	Pakan standart + Air minum		
K+ (Kontrol Positif)	Pakan standart + air minum + pemberian pakan hiperkolesterol		
P1 (Terapi 1)	Pakan standart + air minum + pakan hiperkolesterol + Angkak 0,5 gram		

- P2 (Terapi 2) Pakan standart + air minum + pakan
hiperkolesterol + Angkak 1 gram
- P3 (Terapi 3) Pakan standart + air minum + pakan
hiperkolesterol + Angkak 1,5 gram

Penentuan jumlah sampel minimal menggunakan rumus $p(n-1) \geq 15$,
dimana (p) adalah jumlah perlakuan dan (n) adalah jumlah ulangan
(Kusriningrum, 2008). perhitungan banyaknya ulangan sebagai berikut :

$$P(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5(5n-5) \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$N \geq 4$$

Penelitian ini memiliki 5 perlakuan, dengan dasar rumus seperti diatas dan diperoleh jumlah pengulangan sebanyak lebih dari atau sama dengan 4 kali. Jumlah pengulangan yang diambil adalah 4, sehingga jumlah sampel yang didapat dari penelitian ini sebanyak 20 ekor tikus putih jantan.

4.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas : Diet pakan hiperkolesterol dan dosis
pemberian Angkak (dosis 0,5 g/ekor/hr, 1
g/ekor/hr, dan 1,5 g/ekor/hr).
- b. Variabel tergantung : Kadar MDA dan gambaran histopatologi
Jantung.

- c. Variabel kendali : Umur, jenis kelamin, berat badan, air minum, pakan dan kondisi kandang.

4.5 Prosedur Kerja

4.5.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada semua kelompok perlakuan dikandangkan secara terpisah yaitu 1 kandang untuk 1 kelompok perlakuan dan diadaptasikan selama kurang lebih 7 hari. Selama penelitian tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan pakan dan air minum secara *ad-libitum*. Hewan coba sebanyak 20 ekor kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan secara acak, dimana dalam 1 kelompok berisi 4 ekor tikus. Kemudian tikus dikandangkan dan diletakkan pada suhu ruang sekitar 26-27°C dengan kelembaban ruang 83% (Lin dkk, 2003).

4.5.2 Uji kadar antikolesterol (Lovastatin)

Kadar lovastatin dapat diukur dari serbuk angkak (**Lampiran 3**). Sebanyak 1 gram serbuk angkak diekstrak dengan 2 mL asetonitril dan 0,1 mL asam fosfat 0,1%, kemudian dibiarkan selama 30 menit, setelah itu larutan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Selanjutnya sampel disaring dengan kertas Whatman dan supernatant yang dihasilkan diinjeksikan pada kolom HPLC, dengan demikian, kadar antikolesterol dapat diukur (Kasim *et al.*, 2005). Penentuan kadar antikolesterol dilakukan dengan menggunakan HPLC, pada kolom C18, fase gerak metanol: asetonitril: asam formiat: air

(35:40:15:10), panjang gelombang (λ) 254 nm, dan flow/pressure 1/88 kg.cm.m⁻¹, terhadap ekstrak hasil pemisahan dengan asetonitril. Kadar antikolesterol diperoleh dengan membandingkan luas area lovastatin sampel dengan luas area lovastatin standar. Sebagai standar digunakan tablet lipovas 200 mg yang mengandung 20 mg lovastatin (Nauli dan Udin 2006).

4.5.3 Pemberian Diet Pakan Hiperkolesterol

Pemberian diet pakan hiperkolesterol terdiri dari campuran asam kholat 0,02 g, minyak babi 2 g, dan kuning telur puyuh rebus 1 g/ ekor (Gani *et al.*, 2013) yang diberikan setiap hari, melalui rute oral dengan cara *force feeding* yang sebelumnya dilarutkan dalam air sampai 2 mL, pemberian ini dilakukan pada kelompok K+, P1, P2, dan P3 yang dilakukan selama 14 hari.

4.5.4 Pemberian Terapi Menggunakan Angkak

Sebanyak 20 ekor tikus putih jantan galur Wistar berumur 10-12 minggu dengan berat sekitar 150-200 gram dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan, kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 merupakan kelompok terapi, dimana selama 14 hari akan diberikan diet pakan hiperkolesterol dan kemudian dilakukan pemberian terapi menggunakan angkak pada hari ke 15 dan pemberian dilakukan selama 14 hari.

Pemberian terapi dilakukan secara peroral dengan metode sonde lambung. Pada kelompok K- sebagai kontrol negatif dimana tikus hanya diberi pakan standart dan air minum. Pada kelompok B tikus diberi pakan standart, air minum dan diet hiperkolesterol. Pada kelompok C tikus diberi pakan standart,

air dan pakan diet hiperkolesterol kemudian diterapi dengan pemberian anggakak sebanyak 0,5 g/ekor/hari. Kelompok D dan E perlakuannya hampir sama namun jumlah pemberian terapi anggakak berbeda yaitu pada kelompok D sebanya 1 g/ekor/hari dan kelompok E sebanyak 1,5 g/ekor/hari. Pemberian terapi dilakukan selama 14 hari (**Lampiran 2**).

4.5.5 Pengambilan dan pengukuran kolesterol sampel darah

Pengukuran kadar kolesterol pada hewan coba dilakukan pada hari ke-0 atau awal sebelum pemberian pakan kolesterol dan pengambilan serta pengujian kadar kolesterol yang ke 2 dilakukan pada hari ke 15 setelah induksi pakan hiperkolesterol. Sebelum pengambilan sampel darah, tikus dipuasakan selama 16 jam. Darah tikus diambil dari intra orbital menggunakan mikrohematokrit. Darah dikumpulkan dalam tabung eppendorf kurang lebih 1 mL, dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Tabung yang berisi darah tersebut disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Supernatan yang berisi serum diambil, lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang baru. Serum yang didapat digunakan untuk pengukuran kadar total kolesterol. Kadar total kolesterol ini diukur dengan menggunakan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oksidase Phenol Amino Phenazon*) prosedur dapat dilihat pada **Lampiran 4** (Kasim *et al.*, 2006).

4.5.6 Pengambilan Jantung

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dieutanasia dengan cara dislokasi leher, kemudian dibedah dengan membuat sayatan pada bagian

abdomen. Jantung diperoleh dengan mengeluarkan isi abdomen terlebih dahulu dan dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9%. Jantung dipotong menjadi dua bagian, bagian pertama direndam pada larutan formaldehid 10% untuk pembuatan histopatologi dan bagian kedua dimasukkan kedalam kantong plastik kemudian dimasukkan dalam *ice box* dan diberi *ice gel* agar tetap segar sebagai bahan untuk pemeriksaan MDA.

4.5.7 Pembuatan preparat Jantung

Organ jantung yang telah dicuci dengan NaCl fisiologis dimasukkan ke dalam larutan fiksatif formalin 10%, didehidrasi dengan melewati jaringan pada alkohol dengan konsentrasi bertingkat yaitu 80%, 90%, 95%, 100%, selanjutnya dijernihkan dengan xylol, ditanam di dalam parafin, dipotong menggunakan mikrotom (rotary) dengan ketebalan 4 μ m dan dilekatkan pada obyek gelas, kemudian diwarnai dengan HE (Hematoxylin Eosin). Parafin terlebih dahulu dilarutkan menggunakan xylol, kemudian jaringan direhidrasi menggunakan alkohol dengan konsentrasi menurun dari 100 - 70%. Preparat diletakkan pada air mengalir, dicuci dengan akuades dan dimasukkan ke larutan hematoxylin. Jaringan kembali diletakkan pada air mengalir dan dicuci kembali dengan akuades kemudian diwarnai dengan eosin. Setelah diwarnai, kandungan air dalam jaringan ditarik kembali dan dijernihkan dengan xylol. Langkah terakhir adalah pengeleman dengan entellan dan ditutup dengan cover glass. Langkah kerja dapat dilihat pada **Lampiran 6** (Kasim *et al.*, 2012).

4.5.8 Pengamatan Gambaran Histopatologi Jantung

Pengamatan gambaran histopatologi jantung dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX51* dengan perbesaran 100x (perbesaran lemah), dilanjutkan perbesaran kuat (400x) yang kemudian ditampilkan di layar monitor. Pengambilan gambar histopatologi menggunakan kamera *Olympus DP71* setelah mendapatkan gambar yang diinginkan. Pengamatan dilakukan lima lapang pandang. Pengamatan histopatologi yang diamati berupa perubahan struktur kardiomyosit yang tidak beraturan atau kerusakan sel – sel otot jantung yang ditandai dengan terjadinya hipertrofi, adanya hiperemi, sel nekrosis dan infiltrasi lemak.

4.5.9 Pengukuran Kadar MDA

4.5.9.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar MDA 4 ppm 100 μ L, ditambahkan aquades 550 μ L, 100 μ L TCA 10%, 250 μ L HCl 1 N, 100 μ L Na-Thio 1% dan dihomogenkan. Setelah itu direndam dalam water bath pada suhu 100°C selama 30 menit, kemudian didiamkan pada suhu ruang (26-27°C) dan selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada λ 500-600 nm (Aulanni'am dkk., 2011).

4.5.9.2 Pembuatan Kurva Standar

Larutan stok kit MDA dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 μ g/mL diambil masing-masing 100 μ L, dimasukkan dalam microtube yang berbeda, ditambahkan 550 μ L aquades, 100 μ L TCA 10%, 250 μ L HCl 1 N

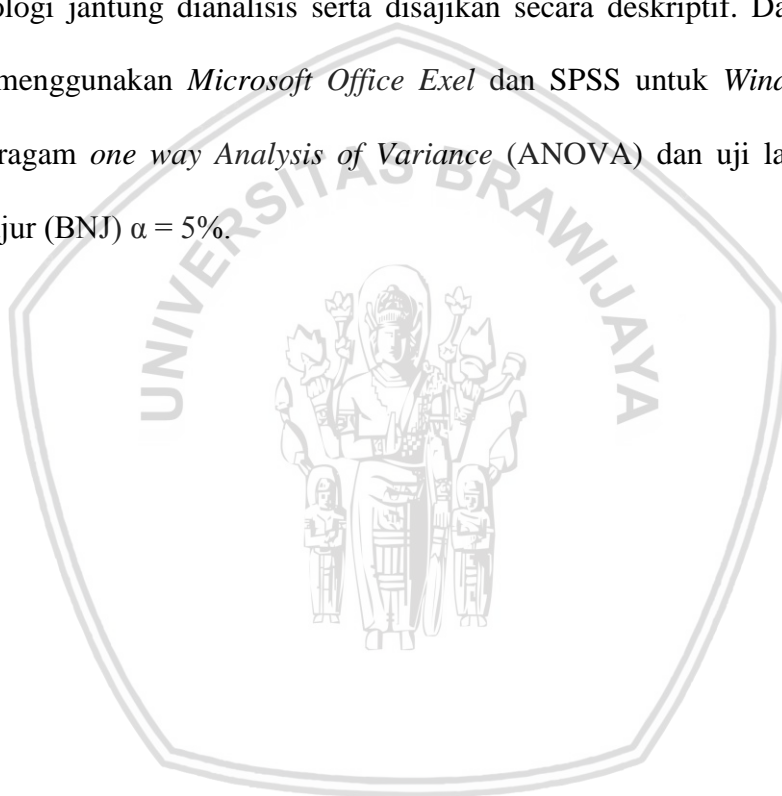
dan 100 μ L Na-Thio 1%. Setelah itu dihomogenkan. Kemudian disentrifus 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dipanaskan dalam water bath suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian didiamkan pada suhu ruang 26-27°C dan selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Hasil absorbansi kemudian dibuat kurva standar MDA dan dihasilkan persamaan linear (Aulanni'am dkk., 2011).

4.5.9.3 Pengukuran Kadar MDA Organ Jantung Metode Thiobarbituric Acid (TBA)

Penentuan kadar MDA dilakukan dengan metode TBA. Jantung bagian kanan ditimbang 0,1 gram, digerus hingga halus, ditambahkan 1 mL NaCl 0,9 %, homogenate dipindahkan ke microtube, disentrifus 8.000 rpm selama 20 menit, supernatan 100 μ L dimasukkan microtube baru, ditambahkan 550 μ L aquades, 100 μ L TCA 10%, 250 μ L HCl 1 N dan 100 μ L Na-Thio 1%. Setelah itu dihomogenkan dan disentrifus 500 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke microtube baru dan direndam dalam water bath pada suhu 100°C selama 30 menit. Supernatan didinginkan pada suhu ruang 26-27°C, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian diplotkan pada persamaan linear sehingga diperoleh nilai kadar MDA. Langkah kerja dapat dilihat pada **Lampiran5** (Aulanni'am dkk., 2011).

4.6 Analisa Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah perubahan kadar MDA dan perubahan gambaran histopatologi jantung. Perubahan kadar MDA diamati secara kuantitatif menggunakan Uji TBA, sedangkan perubahan gambaran histopatologi jantung diamati secara kualitatif. Data kualitatif untuk gambaran histopatologi jantung dianalisis serta disajikan secara deskriptif. Data dianalisis dengan menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *SPSS untuk Windows* dengan analisis ragam *one way Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjutan Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha = 5\%$.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Efek Terapi Angkak Terhadap Kadar MDA (Malondialdehida) Organ Jantung Pada Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia.

Angkak atau disebut juga dengan *Red yeast rice* atau beras merah merupakan hasil fermentasi beras oleh suatu kapang *Monascus sp.* Yang memiliki kandungan Lovastatin, yaitu senyawa dari golongan statin yang dapat bekerja sebagai antikolesterol atau dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Lovastatin tersebut akan menghambat enzim HMG-CoA reduktasi, dimana enzim tersebut berperan dalam pembentukan kolesterol. Hewan coba tikus model hiperkolesterolemia kemudian diterapi menggunakan angkak, hasil terapi dilihat berdasarkan kadar MDA organ jantung, dan tikus juga dilakukan pengukuran kadar kolesterol total untuk melihat status keadaan hiperkolesterolemia hewan coba, yang dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

Kadar MDA organ jantung dapat dijadikan sebagai parameter dalam penelitian ini, karena MDA merupakan Biomarker kerusakan Jaringan yang terjadi karena tingginya kadar kolesterol dan jumlah LDL-Oks (LDL yang teroksidasi) yang berada dalam darah. Nilai pengujian kadar MDA dapat dilihat pada **Lampiran 7**. Hasil pengukuran kadar MDA (Malondialdehida) organ jantung pada kelompok tikus perlakuan yang dianalisa dengan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey*, menunjukkan terjadi penurunan kadar MDA yang dapat kita lihat pada **Tabel 5.1** dan pengujian statistik nilai kadar MDA disajikan pada **Lampiran 8**.

Tabel 5.1 Nilai rata-rata kadar MDA organ Jantung

Kelompok	Rata-rata Kadar MDA (ng/mL)	% Kadar MDA	
		Peningkatan dari kelompok K-	Penurunan dari kelompok K+
Kontrol Negatif	428,3±58,64 ^a	-	-
Kontrol Positif	700,8±55,20 ^c	100	-
P 1	579,0±45,50 ^b	-	17.3
P 2	465,8±50,30 ^a	-	33.4
P 3	430,2±45,89 ^a	-	39

Keterangan : Perbedaan notasi a,b, dan c menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0.05$) diantara kelompok perlakuan.

Pemberian pakan diet hiperkolesterol dan pemberian terapi angkak hasil fermentasi beras, menunjukkan perbedaan nyata ($p<0.05$) diantara perlakuan (**Tabel 5.1**), yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Nilai rata-rata kadar MDA jantung pada kelompok Kontrol negatif sebesar 428,3±58,64 ng/mL, nilai tersebut menjadi nilai standar rata-rata kadar MDA pada tikus sehat. Nilai rata-rata kadar MDA paling tinggi adalah pada kelompok kontrol positif yaitu sebesar 700,8±55,20 ng/mL. Hal ini menunjukkan bahwa pada keadaan hiperkolesterolemia terjadi kenaikan radikal bebas yang dinilai berdasarkan kadar MDA pada organ jantung. Terapi angkak selama 14 hari menyebabkan penurunan kadar MDA pada kelompok P1, P2, P3 berturut-turut sebesar 579,0±45,50 ng/mL, 465,8±50,30 ng/mL, dan 430,2±45,89 ng/mL. Produksi MDA pada kelompok sehat (K-) menunjukkan bawasannya radikal bebas atau MDA juga diproduksi sebagai produk metabolisme, hal itu dikarenakan setiap waktu tubuh akan mengalami degenerasi sel yang bertujuan untuk memperbaiki sel-sel tubuh yang

rusak, dari kerusakan sel tersebut akan menghasilkan senyawa MDA. Senyawa oksidan reaktif juga dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh, seperti proses oksidasi makanan menjadi energi (Praptiwi, 2006).

Pada keadaan hiperkolesterolemia (K+) terbukti terjadi peningkatan kadar MDA sebesar 61,2 % yang disebabkan oleh radikal bebas. Tingginya ROS yang terbentuk dan tidak adanya antioksidan yang dapat mengimbangi hal itu akan menyebabkan terjadinya proses peroksidasi lipid dan pada akhirnya akan menghasilkan senyawa aldehida salah satunya adalah MDA (malondialdehyde) yang dapat menunjukkan derajat stress oksidatif suatu organ/ jaringan. Hal itu sesuai dengan pendapat Tomkin & Daphne (2012), yang menyatakan bahwa keadaan hiperkolesterolemia menyebabkan peningkatan kadar lipid dan kolesterol dalam darah yang menggambarkan manifestasi dari gangguan metabolisme lipoprotein. Lipoprotein yang dimaksud adalah *low density lipoprotein* (LDL) yang apabila kadarnya di dalam serum tinggi menjadi faktor predisposisi terbentuknya atheroma. Kadar kolesterol LDL yang tinggi merupakan penyebab utama terjadinya jejas pada lapisan endotel dan kardiomyosit. Menurut Bowless *et al.*, (2011) menyatakan bahwa dalam kondisi tingginya kadar kolesterol dalam darah dapat menyebabkan kerusakan mitokondria sel jantung dan juga dapat menyebabkan tingginya produksi radikal bebas pada jantung. Produksi ROS yang meningkat dapat mendegradasi lemak tak jenuh ganda atau terjadinya peroksidasi lipid yang nantinya membentuk senyawa malondialdehyde (MDA) (Daniels *et al.*, 2009).

Hasil analisa statistik kadar MDA pada masing-masing kelompok tikus yang diterapi dengan dosis 0,5 g/ekor/hr, 1 g /ekor/hr, dan 1,5 g /ekor/hr berbeda nyata ($P<0,05$) antar perlakuan. Presentasi kadar MDA tikus kelompok P1 mengalami penurunan sebanyak 17,3 %, kelompok P2 sebanyak 33,4 %, dan kelompok P3 sebanyak 39% terhadap kelompok tikus hiperkolesterolemia (K+). Hal itu dikarenakan angkak memiliki kandungan lovastatin yang merupakan senyawa antikolesterol dari golongan statin yang mampu menghambat pembentukan kolesterol di dalam hati. Hal itu sesuai menurut Katzung, (2004) yang menyatakan bahwa lovastatin bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase, yang merupakan enzim pengontrol jalur biosintesis kolesterol di dalam hati. Penghambatan enzim HMG-CoA reduktase akan mencegah pembentukan mevalonat dan kolesterol. Selain itu, lovastatin dapat berperan dalam meningkatkan jumlah reseptor LDL dalam hati, sehingga katabolisme kolesterol meningkat. Hal tersebut menyebabkan jumlah kolesterol tubuh menurun, sehingga kerusakan mitokondiria pada miosit jantung yang disebabkan oleh deposisi lemak dapat dicegah dan produksi ROS pada jantung menurun menyebabkan proses peroksidasi lipid turun atau tidak terjadi, yang ditandai dengan menurunnya kadar MDA pada jantung.

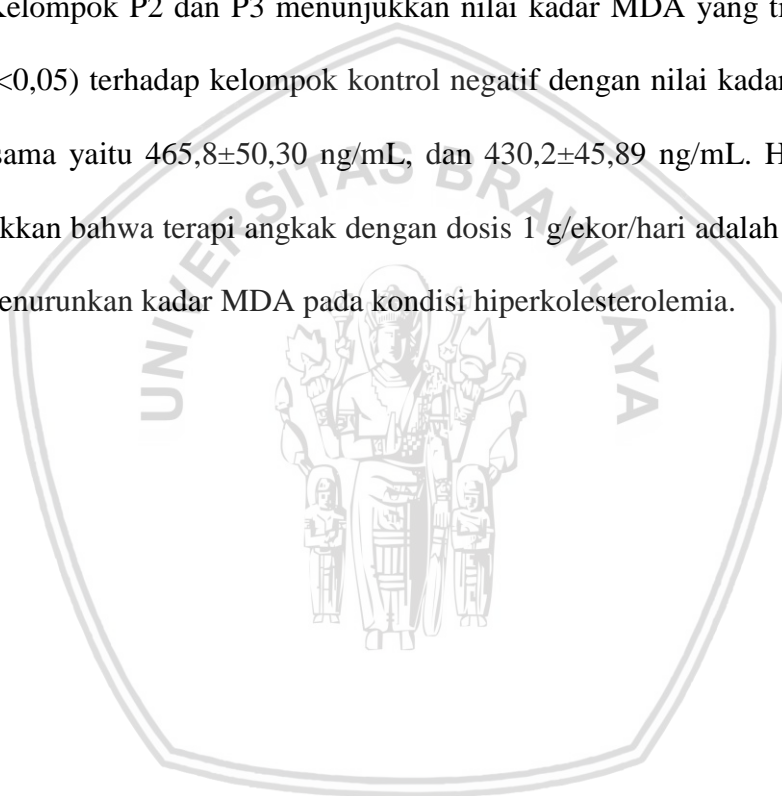
Prinsip kerja lovastatin terhadap HMG-CoA reduktase sama dengan prinsip kerja inhibitor kompetitif enzim. Dimana HMG-CoA reduktase merupakan enzim utama yang menduduki proses pembentukan kolesterol di hati dengan cara berikatan dengan HMG-CoA dan berubah menjadi mevalonat. Ketika lovastatin hadir dalam bentuk asam hidroksi terbuka dengan jumlah konsentrasi

yang lebih banyak dimanding substrat (HMG-CoA), maka enzim HMG-CoA reduktase secara otomatis akan berikatan dengan lovastatin sehingga enzim HMG-CoA reduktase yang berikatan dengan substrat (HMG-CoA) lebih sedikit dan frekuensi pembentukan kolesterol tereduksi (Aryantha, 2004). Angkak juga mengandung antioksidan berupa antosianin dari kelompok flavonoid yang merupakan antioksidan kuat dalam mencegah terjadinya oksidasi dan meningkatkan daya tahan tubuh (Purbani, 2007). Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan menyumbangkan satu elektron pada elektron tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (Fidzaro, 2010).

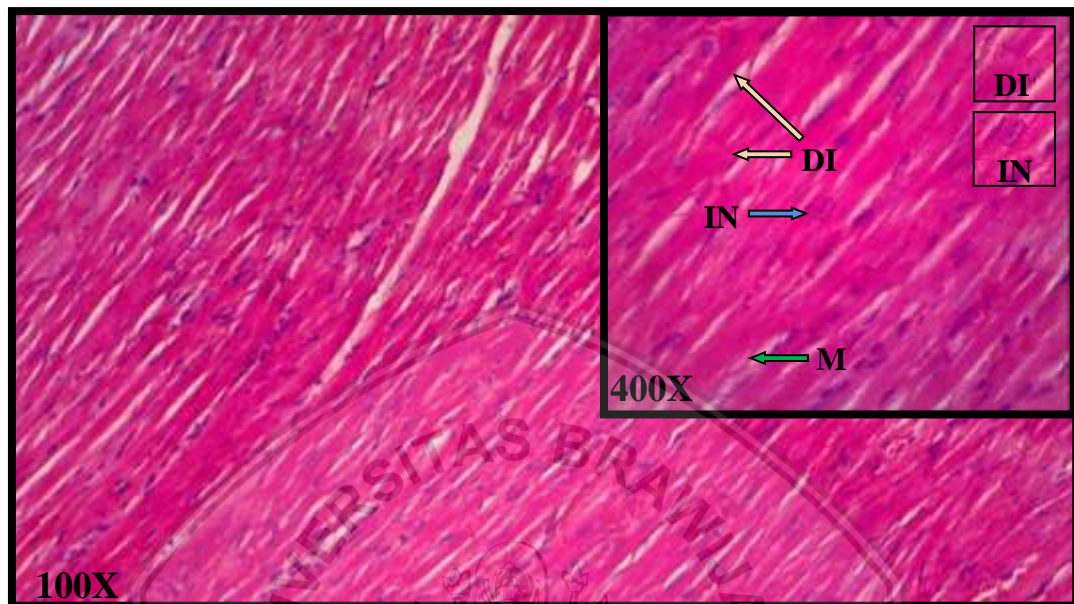
Kelompok terapi P1 dengan dosis 0,5 g/ekor/hr secara statistik menunjukkan nilai rata-rata kadar MDA yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok perlakuan yang lain yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan notasi. Hal ini menunjukkan bahwa terapi angkak dengan dosis 0,5 g/ekor/hr belum efektif menurunkan kadar kolesterol pada tikus model hiperkolesterolemia. Pada Kelompok P2 menunjukkan nilai kadar MDA yang tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap kelompok P3, yang dilihat berdasarkan nilai kadar MDA yang kurang signifikan yaitu $465,8 \pm 50,30$ ng/mL, dan $430,2 \pm 45,89$ ng/mL, hal itu dikarenakan pada dosis 1,5 g/ekor/hari merupakan dosis maksimal yang masih dapat diterima dengan baik oleh tubuh tikus dan dapat bekerja secara maksimal dalam menurunkan kadar MDA pada kelompok tikus P3, sehingga jika diberikan dosis lebih dari itu akan menyebabkan efek toksisitas pada tikus, penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Danuri (2009) pada pemberian

angkak dosis 2 g/ekor dan 3 g/ekor mulai menyebabkan toksisitas yang ditunjukkan dengan peningkatan aktivitas enzim ALAT (*Alanin Amino Trasferase*), ASAT (*Aspartat Amino Tranferase*), dan peningkatan kadar urea darah, dan juga menyebabkan kerusakan organ hati dan ginjal yang ditunjukkan dengan adanya lesion ringan yang bersifat reversibel.

Kelompok P2 dan P3 menunjukkan nilai kadar MDA yang tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap kelompok kontrol negatif dengan nilai kadar MDA yang hampir sama yaitu $465,8 \pm 50,30$ ng/mL, dan $430,2 \pm 45,89$ ng/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terapi angkak dengan dosis 1 g/ekor/hari adalah dosis efektif dalam menurunkan kadar MDA pada kondisi hiperkolesterolemia.

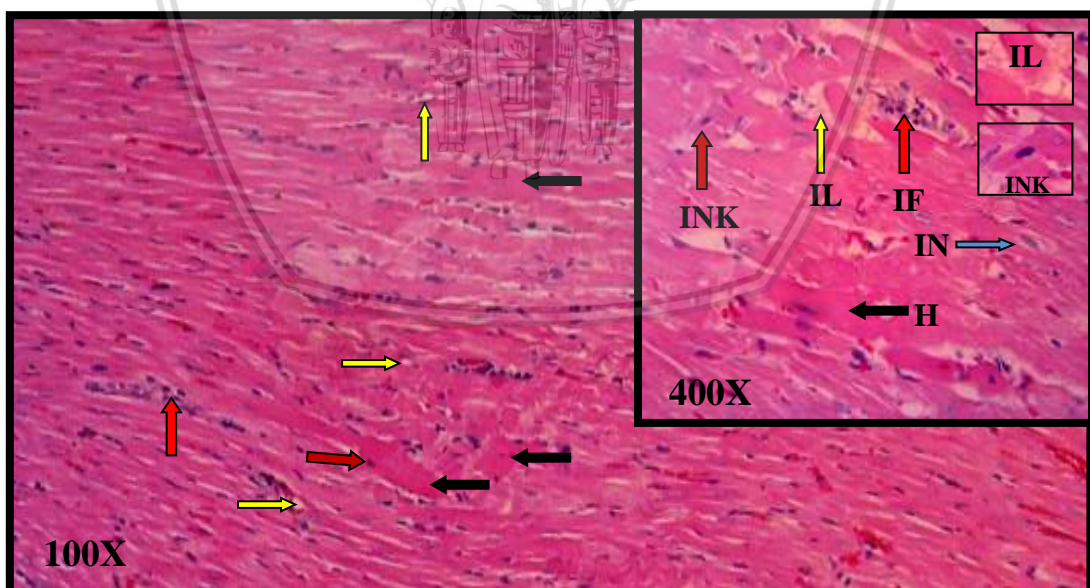


5.2 Efek Terapi Angkak Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Jantung Pada Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia



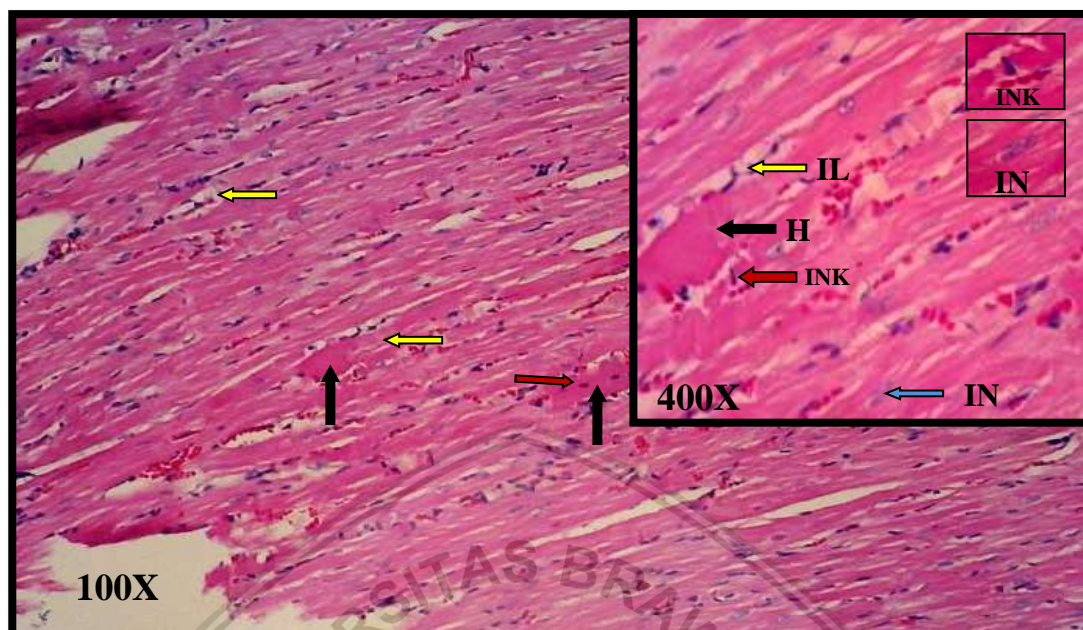
Gambar 5.1 A Histopatologi miokardium jantung pewarnaan HE. Kelompok kontrol negatif (K-). Perbesaran 100X dan 400X.

Keterangan : Inti normal (↑ IN), myofibril (↑ M), Diskus interkalatus (↑ DI).



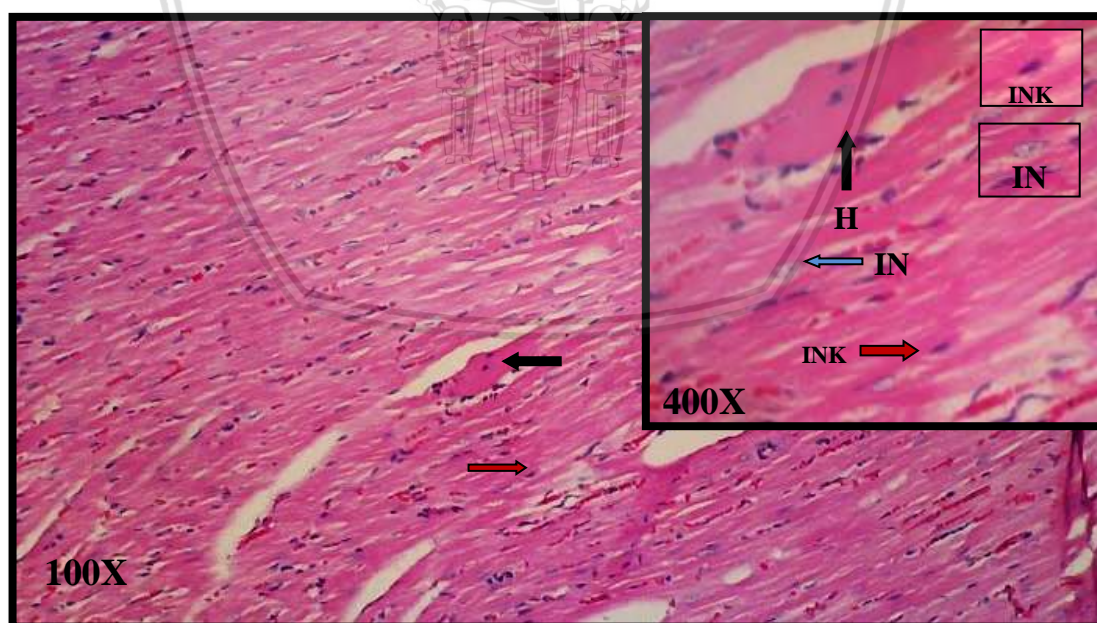
Gambar 5.1 B Histopatologi miokardium jantung pewarnaan HE. Kelompok kontrol Positif (K+). Perbesaran 100X dan 400X.

Keterangan : Inti normal (↑ IN), inti miosit nekrosis (↑ INK), infiltrasi sel lemak (↑ IL), myofibril (↑ M), inflamasi (↑ IF), dan Hipertrofi (↑ H).



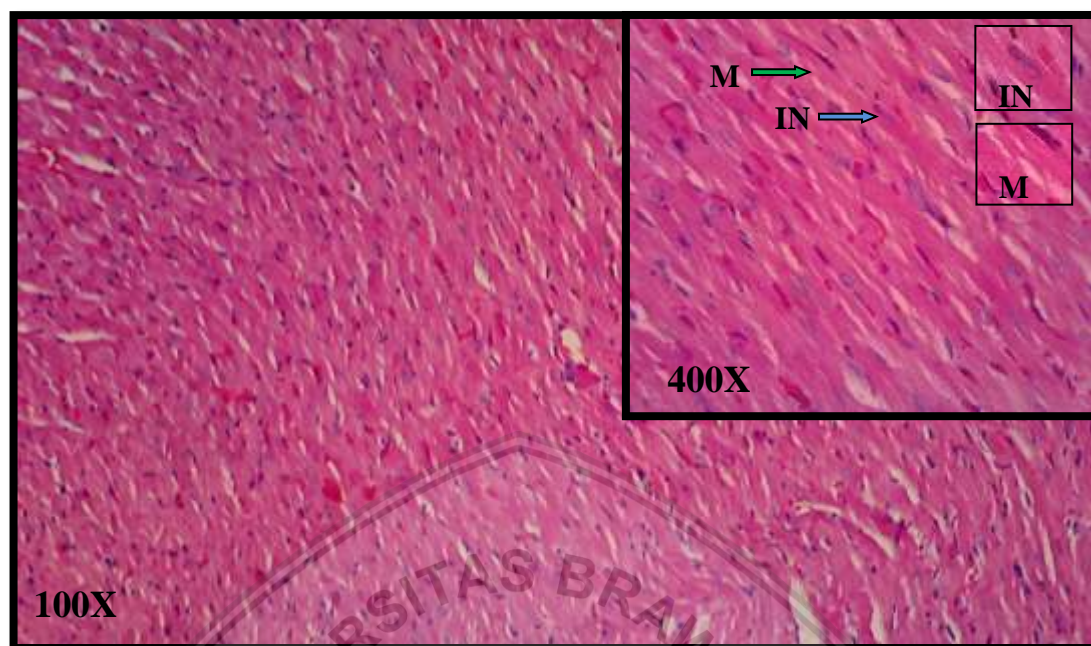
Gambar 5.1 C Histopatologi miokardium jantung pewarnaan HE. Perbesaran 100X dan 400X. Kelompok Tikus hiperkolesterolemia terapi angkak 0,5 g/ekor/hr.

Keterangan : Inti normal (↑IN), inti miosit nekrosis (↑INK), infiltrasi sel lemak (↑IL), dan Hipertrofi (↑H).



Gambar 5.1 D Histopatologi miokardium jantung pewarnaan HE. Perbesaran 100X dan 400X. Kelompok Tikus hiperkolesterolemia terapi angkak 1 g/ekor/hr.

Keterangan : Inti normal (↑IN), inti miosit nekrosis (↑INK), dan Hipertrofi (↑H).



Gambar 5.1 E Histopatologi miokardium jantung pewarnaan HE. Perbesaran 100X dan 400X. Kelompok Tikus hiperkolesterolemia terapi angkak 1,5 g/ekor/hr. Keterangan : Inti normal (↑ IN), myofibril (↑ M).

Hasil penelitian dari terapi pemberian angkak terdapat gambaran histopatologi organ jantung yang mengalami hiperkolesterolemia dengan pewarnaan HE disajikan pada **Gambar 5.1**. Gambaran histopatologi organ jantung pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan struktur kardiomyosit pada miokardium. Pada kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.1 A**) menunjukkan gambaran histopatologi jaringan jantung normal yang ditandai dengan bentuk dan susunan serat miofibril teratur, batas antar sel terlihat jelas, kemudian terlihat adanya inti sel ditengah dengan sitoplasma berwarna merah muda. Gambaran tersebut sesuai dengan Kuehnelt (2003) dan Mescher (2010) bahwa gambaran histologi organ jantung adalah batas antar sel-sel jelas,

miosit memiliki satu inti yang terletak di tengah dan serabut otot jantung (miofibril) yang teratur.

Pada kelompok kontrol positif / hiperkolesterolemia (**Gambar 5.1 B**) menunjukkan adanya perubahan gambaran histopatologi jantung, perubahan gambaran tersebut diakibatkan oleh pemberian pakan diet tinggi kolesterol dimana terlihat adanya sel miosit yang piknotik dan penebalan miosit yang merupakan tanda awal terjadinya kerusakan sel berupa nekrosis dan hipertrofi pada sel tersebut. Hal itu disebabkan oleh peningkatan tekanan darah pada saat kondisi hiperkolesterolemia menyebabkan peningkatan beban jantung dalam memompa darah, sehingga menyebabkan proses *remodelling* ventrikel sebagai proses kompensasi /adaptasi, dan terjadinya hipertrofi akibat dari mempertahankan perfusi jaringan oleh beban jantung yang meningkat (Kowalak JP, *et al.*, 2014). Tingginya kadar LDL memicu terjadinya reaksi oksidasi oleh radikal bebas sehingga terbentuk LDL-oks. LDL-oks yang berada di jantung menyebabkan rusaknya sel-sel endotel pembuluh darah dan lapisan pericardium menyebabkan munculnya reaksi inflamasi, sehingga dapat ditemukan sel-sel radang disekitar sel sel yang mengalami kerusakan. Hal itu sesuai dengan Tomkin & Daphne (2012), bahwa keadaan hiperkolesterolemia mengacu pada peningkatan kadar lipid dan kolesterol dalam darah yang menggambarkan manifestasi dari gangguan metabolisme *Lipoprotein* (LDL) yang apabila kadarnya di dalam serum tinggi menjadi faktor predisposisi terbentuknya ateroma. Kadar LDL yang tinggi merupakan penyebab utama terjadinya jejas pada lapisan endotel dan kardiomiosit. Rusaknya sel endotel menyebabkan terjadinya deposisi lemak dalam

miokardium karena adanya penimbunan abnormal trigliserid dalam sel parenkim. Perlemakan bermanifestasi sebagai vakuola-vakuola lemak di dalam sitoplasma. Akumulasi lemak tersebut merupakan perubahan morfologi yang bersifat reversible ketika sel bereaksi terhadap cedera atau jejas (Mitchell dan Cotran, 2007).

Menurut Tambayong (2000), menyatakan bahwa akumulasi abnormal lemak pada sel dapat mengakibatkan terjadinya toksisitas sel atau disebut juga dengan lipotoksitas. Lemak akan menembus membran sel melalui transporter *fatty acid transport protein* yang menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel tersebut menyebabkan terjadinya infiltrasi lemak, dimana sel lemak menembus membran sel dan menyebabkan terjadinya akumulasi sel-sel lemak intra seluler diantara sel parenkim suatu organ, salah satunya pada sel otot jantung (Malhi dan Gores, 2008).

Pemberian terapi menggunakan angkak mampu memperbaiki kerusakan jantung yang ditunjukkan pada kelompok tikus hiperkolesterolemia yang diberi terapi angkak dengan dosis 0,5 g/ekor/hr (**Gambar 5.1 C**) menunjukkan adanya perbaikan pada kardiomyosit yaitu berkurangnya struktur myofibril yang tidak beraturan atau bergelombang, mulai sedikit adanya infiltrasi lemak, namun masih terdapat adanya miosit yang mengalami hipertrofi. Pada kelompok tikus hiperkolesterolemia yang diterapi angkak dosis 1 g/ekor/hr (**Gambar 5.1 D**) mengalami perbaikan struktur myofibril yang ditandai dengan struktur otot jantung yang mulai rapi, namun masih terlihat adanya hipertrofi miosit, sedangkan pada kelompok tikus hiperkolesterolemia yang diterapi angkak dosis 1,5 g/ekor/hr

(Gambar 5.1 E) mengalami perbaikan yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok terapi yang sebelumnya, hal itu ditunjukkan dengan gambaran struktur kardiomiosit yang mendekati keadaan normal, dimana sudah tidak ditemukan lagi sel yang mengalami hipertrofi.

Keadaan hiperkolesterolemia dapat menyebabkan kerusakan pada gambaran histologi jantung tikus. Proses kerusakan jantung dimulai saat tubuh memproduksi kolesterol dalam jumlah banyak yang disebabkan oleh diet tinggi kolesterol. Tubuh berusaha menyeimbangkan kadar kolesterol dalam darah dengan jalan pembentukan asam empedu, dari proses tersebut dihasilkanlah radikal bebas berupa ROS, saat ROS bertemu dengan LDL maka akan terjadi reaksi oksidasi dan menghasilkan LDL-oks yang sifatnya reaktif dan merusak. LDL-oks yang berada di pembuluh darah akan menyebabkan kerusakan sel endotel dan menyebabkan sirkulasi darah terhambat karena akumulasi lemak pada dinding pembuluh darah. Rusaknya sel endotel pembuluh darah menyebabkan inaktivasi NO (*Nitric Oxide*) sehingga terjadi peningkatan tekanan darah. *Nitric oxide* (NO) merupakan *endothelium derived relaxing factor* (EDRF), untuk relaksasi otot polos pembuluh darah, berfungsi sebagai vasodilator dan meningkatkan aliran darah (Ceriello, 2008). Peningkatan tekanan darah dan inaktivasi NO, menyebabkan terjadi peningkatan beban jantung dalam memompa darah, dan menyebabkan proses *remodelling* ventrikel sebagai proses adaptasi, sehingga terbentuknya hipertrofi dan susunan otot yang bergelombang akibat mempertahankan perfusi jaringan oleh beban jantung yang meningkat (Kowalak, *et al.*, 2014). LDL-oks yang berada pada jantung akan menyebabkan kerusakan

sel endotel melalui proses peroksidasi lipid, rusaknya sel endotel menyebabkan terjadinya deposisi lemak atau masuknya LDL dalam miokardium. Lemak akan menembus membran sel melalui transporter *fatty acid transport protein* menyebabkan terjadinya akumulasi sel-sel lemak intra seluler, perlemakan akan bermanifestasi sebagai vakuola-vakuola lemak di dalam sitoplasma. Akumulasi lemak tersebut merupakan perubahan morfologi yang bersifat reversible ketika sel bereaksi terhadap cedera atau jejas (Mitchell dan Cotran, 2007). Akumulasi lemak dalam jaringan jantung dapat menyebabkan disfungsi miosit otot jantung dan merusak mitokondria, sehingga mengakibatkan peningkatan respirasi dari mitokondria dan memicu produksi radikal bebas (O_2^-) atau ROS yang dapat menyebabkan terjadinya proses peroksidasi lipid, sehingga terjadi kerusakan sel dan nekrosis otot jantung.

Radikal superoksida (O_2^-) yang diproduksi karena teraktivasi oleh NADPH akan diubah oleh SOD yang merupakan antioksidan alami tubuh menjadi H_2O_2 dan OH^- sehingga mengaktivasi MAPKs melalui enzim *tyrosin kinase*. Aktivasi MAPK ini nantinya dapat menyebabkan hipertrofi dan apoptosis jaringan jantung, keadaan tersebut menginisiasi INOS dan menghasilkan radikal bebas berupa NO (*Nitric oxide*). NO dapat berikatan dengan Radikal superoksida (O_2^-) dan membentuk $ONOO^-$. $ONOO^-$ dapat menyebabkan peroksidasi lipid yang akan mengubah kanal ion dan fungsi ion, mengakibatkan pengurangan sensitivitas miofilamen sehingga ikatan actin dan myosin terganggu dan menyebabkan kerusakan pada kardiomyosit (Song, *et al.*, 2000).

Mekanisme perbaikan gambaran histopatologi jantung yaitu lovastatin yang merupakan senyawa antikolesterol didalam angkak bekerja dengan cara menghambat enzim HMG-CoA reduktase. Prinsip kerja lovastatin terhadap HMG-CoA reduktase sama dengan prinsip kerja inhibitor kompetitif enzim, dimana HMG-CoA reduktase di ibaratkan sebagai enzim utama, lovastatin sebagai inhibitor kompetitifnya dan HMG-CoA sebagai substrat. HMG-CoA reduktase merupakan enzim utama yang menduduki proses pembentukan kolesterol di hati dengan cara berikatan dengan HMG-CoA dan berubah menjadi mevalonat. Ketika lovastatin hadir dalam bentuk asam hidroksi terbuka dengan jumlah konsentrasi yang lebih banyak dibanding substrat (HMG-CoA), maka enzim HMG-CoA reduktase secara otomatis akan berikatan dengan lovastatin sehingga enzim HMG-CoA reduktase yang berikatan dengan substrat (HMG-CoA) lebih sedikit dan frekuensi pembentukan kolesterol dapat tereduksi (Aryantha, 2004).

Tereduksinya pembentukan kolesterol dihati menyebabkan lipoprotein LDL yang dihasilkan menurun, dan jumlah LDL yang menuju jantung juga sedikit hal itu menyebabkan proses kerusakan jantung yang diakibatkan oleh infiltrasi lemak / LDL dan radikal bebas semakin sedikit. Angkak juga mengandung antioksidan berupa antosianin dari kelompok flavonoid yang merupakan antioksidan kuat dalam mencegah terjadinya oksidasi (Purbani, 2007). Flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi dengan menyumbangkan satu elektron pada elektron tidak berpasangan, sehingga dapat menghambat dan memutus rantai peroksidasi lipid penyebab kerusakan pada jaringan jantung.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian terapi angkak dapat menurunkan kadar MDA organ jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia dengan dosis efektif 1 g/ekor/hari.
2. Pemberian terapi angkak mampu memperbaiki gambaran histopatologi organ jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia dengan dosis terbaik 1,5 g/ekor/hari yang ditunjukkan dengan perubahan struktur kardiomiosit mendekati normal.

6.2 Saran

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui adanya toksisitas yang terjadi dalam pemberian angkak pada kasus hiperkolesterolemia, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat pada angkak yang dapat berperan dalam pengobatan hiperkolesterolemia

DAFTAR PUSTAKA

- Aniya, Y., M. Shimabukuro, M. Shimoji, M. Kohatsu, M. A. Gyamfi, C. Miyagi, D. Kunii, F. Takayama, T. Eashira. 2000. *Antiokidant and Hepatoprotective Actions of the Medicinal Herb Artemisia Campestris from the Okinawa Islands*. Biol Prharm Bull: 309-12.
- Aryantha, P. N. I. 2004. *Eksplorasi Fungi Deuteromycetes (Aspergillus sp. dan Pinicilium sp.) Penghasil Anti kolesterol Lovastatin*. Laporan Penelitian. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. ITB. Bandung.
- Aulanni'am, A. Rosdiana dan N. L. Rahma. 2011. Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum* Borry) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehid dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD (Inflammatory Bowel Disease). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*. 4 (1): 57-64.
- Baigent and M. Clarke. 2008. Multifactorial ethiologi of hypercholesterolemia: implication for prevention of coronary heart disease. *Journal Atheros Thromb*. 11:1619-1635.
- Bowless, D. K., K. S. McCommus, A. M. McGee, M. H. Laughlin and C. P. Baines. 2011. *Hypercholesterolemia Increases Mitochondrial Oxidatives Stress and Enhances The MTP Response In The Porcine Myocardium: Beneficial Effects Of Chronic Exercise*. Am J Physio Regul Integr Comp Physiol. 301(5): R1250-R1258.
- Campbell, N. A. 2004. *Biologi Edisi Kelima Jilid 3*. Jakarta: Erlanga.
- Carvalho, J. C., B. O.Oishi, A.Pandey, C. R. Soccol. 2005. Biopigments from Monascus: Strains Selection, Citrinin Production and Color Stability. *An Int Ernational Journal*. Brazilian Archives of Biology and Technology. 48(6):885-894.
- Ceriello A. 2008. *Possible Role of Oxidative Stress in The Pathogenesis of Hypertension*. *Diabetes Care*. 31(2):S181.
- Chen W. P., B.Y. Ho, C. L. Lee, CH. Lee, T.M. Pan. 2008. Red mold rice prevents the development of obesity, dyslipidemia and hyperinsulinemia induced by high-fat diet. *International Journal of Obesit (Lond)*. 32(11):1694-704.
- Cochran, P. E. 2011. *Veterinary Anatomi and Physiology : A Clinical Laboratory Manual, 2nd Edition*. Delmar Cengage Learning. New York, 208-210.
- Dalimartha, S. 2001. *36 Resep Tumbuhan Untuk Menurunkan Kolesterol*. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Daniels TF, Killinger KM, Michal JJ, Wright RW, Jiang Z. 2009. *Lipoproteins, cholesterol homeostatis and cardiac health*. Int J Biol Sci; 5(5):474-88.

- Danuri, H. 2009. Analisis Enzim Alanin Amino Transferase (ALAT), Aspartat Amino Tranferase (ASAT), Urea Darah, dan Histopatologi Hati dan Ginjal Tikus Putih Galur Sprague-Dawley Setelah Pemberian Angkak. *J. Teknologi, dan Industri Pangan*, Vol XX, No.1
- Duarte, M. M., R. N. Moresco, T. Duarte, A. Santi, M. D. Bagatini, I. B. Cruz Da, M. R. Schetinger, V. L. Loro. 2010. *Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism*. *Clinical Biochemistry*, 43(13–14), pp.1118–1123.
- Edyson. 2003. *Pengaruh Pemberian Vitamin C dan E Terhadap Aktifitas Kadar MDA pada Eritrosit Rattus norvegicus Galur Wistar yang Diinduksi L-tiroksin*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Erdougrul O., S. Azirak. 2004. *Review of the studies on the red yeast rice (Monascus purpureus)*. *Turk Electron J Biotechnol*. 2(5):37–49.
- Evans, M. D., and M. S. Cooke. 2006. Lipid and Protein mediated oxidative damage to DNA. In: Singh, K. S., editor. *Oxidative stress, disease and Cencer*. Singapura: Mainled Press. 201-220.
- Fauzana, D. 2015. *Pengaruh pemberian ekstrak Etanol 96% Herba kumis kucing (Orthosiphom stamineus Benth) Terhadap penurunan kadar Kolesterol total pada tikus jantan yang diinduksi pakan hiperkolesterol*. [Skripsi]. Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Ferrari, R. 2009. Healthy Versus Sick Myocyte: Metabolism, Structure and Function. Defining The Friends and Foes. *Dialogues in Cardiovascular Medicine* 14(4): 227-240.
- Fidzaro, 2010, *Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Klabat (Trigonella Foenum-Graecum L) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas Mencit (Mus Musculus) yang Terpapar Streptozotocin*, *Skripsi UIN*, hal 43.
- Gani, N., IM. Lidya, and MP. Mariska. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschus manihot L.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 2 (1) 44-49.
- Gandjar, I. dan W. Sjamsuridzal. 2006. *Mikologi: Dasar dan Terapan*. ed1. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Girman, P., K. Jan, and B. Peter. 2015. *Rat Experimental Transplantation Surgery: A Practical Guide*. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London.
- Harini, M., DA, Okid. 2009. Blood Cholesterol Level of Hypercholesterolemia Rat (Rattus norvegicus) After VCO Treatment. *Journal Bioscience*. Vol 1 No 2 : 53-58.
- Hartoyo, A., N Dahrulsyah, Sripalupi dan P. Nugroho. 2008. Pengaruh Fraksi Karbohidrat Kacang Komak (Lablab Purpureus (L) Sweet). *Jurnal teknologi dan industri pangan*, 19: 25-31.

- Herwiyarirasanta, B.A. Eduardus. 2010. *Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (Rattus norvegicus) With High Fat Diet*. Science Article Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hussain SNA, A. Giaid, QEI. Dawiri, D. Sakkal, R. Hattori, Y. Guo. 2007. Expression of nitric oxide synthase and GTP cyclohydrolase I in the ventilatory and limb muscles during endotoxemia. *Am J Respir Cell Mol Biol* ;17:173–180.
- INPR (The Institute for Natural Products Research). 2006. cited in: http://www.jenshvass.com/pharmanex/pdf/inpr_monascus.pdf.(4/12/2006).
- Kasim E., S. Astuti, N. Nurhidayat. 2005. *Karakterisasi pigmen dan kadar lovastatin beberapa isolat Monascus purpureus*. Biodiversitas 6(4): 247-250.
- Kasim E., Y. Kurniawati, N. Nurhidayat. 2006. *Pemanfaatan Isolat Lokal Monascus purpureus untuk Menurunkan Kolesterol Darah pada Tikus Putih Galur Sprague Dawley*. Biodiversitas. Vol. 7, Hlm: 123-126.
- Kasim E., E. Triana, T. Yulinery, dan N. Nurhidayat. 2012. *Pengaruh Angka Hasil Fermentasi Beras Oleh Monascus purpureus JMBA Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Glutathion Peroksidase (Gpx) Serta Histopatologi Hati Tikus Galur Sprague Dawley*. Pusat Penelitian Biologi-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor.
- Katzung, G. Bertram. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta. EGC.
- Kowalak, J. P., W. Welsh, B. Meyer. 2014. *Buku Ajar Patofisiologi*. EGC. Jakarta. pp. 138-180.
- Krummel DA. 2008. *Medical Nutrition Therapy in Cardiovascular Disease*. In: Mahan LK, Escott-stump S. Krause's Food, Nutrition, and Diet Therapy 12th Edition. WB Saunders Company : Philadelphia.
- Kuehnel, W. 2003. *Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy* 4th edition, revised and enlarged. Georg Thieme Verlag. Stuttgart-Germany.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusumastuty I. 2014. Sari Buah Markisa Ungu Mencegah Peningkatan Mda Serum Tikus Dengan Diet Aterogenik. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, Volume 1 Edisi 1 : 50 – 56.
- Lei W., M. Gong, H. Nishida, C. Shirakawa, S. Sato, T. Konishi. 2007. *Psychological Stress-Induced Oxidative Stress as a Model of SubHealthy Condition and the Effect of TCM*. *Evid Based Complement Alternat Med*.;4(2):195–202.

- Lina, H. S., S. Listyawati, dan Sutarno. 2003. Analisis Kimia-Fisika Urin Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemberian Daun Seledri (*Apium graveolens* Linn). *Journal of Biosmart* 1(5): 43-46.
- Luczaj, W., and S. Elzbieta. 2003. *DNA Damage Caused by Lipid Peroxidation Products*. *Cellular and Molecular Biology Letters* 8: 391-413.
- Ma, J., Y. Li, Q. Ye, J. Li, Y. Hua, D. Ju, D. Zhang, R. Cooper, and M. Chang. 2000. Constituents of red yeast rice, a traditional chinese food and medicine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5220-5225.
- Malhi, H., dan G. J. Gores. 2008. *Molecular mechanism of lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease*. *Semin. Liver Dis.* 28(4):320-360.
- Matsuzaki S., P. A. Szweda, L. I. Szweda, K. M. Humphries. 2009. *Regulated Production of Free Radicals by the Mitochondrial Electron Transport Chain: Cardiac Ischemic Preconditioning*. *Adv Drug Deliv Rev.* 61(14):1324-31.
- Mitchell, R. N., dan R. S. Cotran. 2007. *Jejas, Adaptasi, dan Kematian Sel*. Buku Ajar Patologi. EGC, Jakarta.
- Murray, R. K., Granner, and Rodwell. 2003. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Andry Hartono. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Nafrialdi, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi-5*. Gaya Baru. Jakarta.
- Natasya, S. O. H., Padaga, M. C., Wuragil, D. K. 2014. *Ekspresi Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) dan Gambaran Histopatologi Jantung pada Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia yang Diberi Terapi Yogurt Susu Kambing*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang.
- Nauli T, Udin LZ. 2006. *Model fermentasi lovastatin*. *Akta Kimindo* 1(2): 99-104.
- Permana D. R., S. Marzuki, D. Tisnadaja. 2004. *Analisis Kualitas Produk Fermentasi Beras (Red Fermented Rice) dengan Monascus purpureus 3090*. BIODIVERSITAS. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong – Bogor.
- Pribadi, F. W., dan D. A. Ernawati. 2010. Efek Catechin Terhadap Kadar Asam Urat, C Reaktif Protein (CRP) dan Malondialdehid Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperurinemia. *Jurnal Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan*. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.
- Price, S. A., and L. M. Wilson. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*, edisi 6. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Purba, B. A. 2013. *Fisiologi Kardiovaskuler*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Jambi.
- Rahayu, Endang dkk. 1993. *Bahan Pangan Hasil Fermentasi*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Ronny, Setiawan, dan S. Fatimah. 2010. *Fisiologi Kardiovaskuler*. Jakarta: EGC.

- Santoso, G.S.B. 1985. *Produksi pewarna alami angkak dengan media fermentasi beras sosoh*. Media Teknologi dan Pangan 11 (2): 34-38.
- Schlesinger, D. P. 2011. Raw food diets in companion animals: A critical review. *Canadian Veterinary Journal*. 52(1): 50–54.
- Shieh, P., S. Pao., J. Li. 2008. *Traditional Chinese Fermented Foods*. Sec.Ed. CRC Press.
- Sigit, J. 2003. *Sistem Kardiovaskular : Jantung*. Fakultas Farmakologi. Farmasi Klinik Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung. Jawa Barat.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal*. Medicine.nited of State America: Mosby. Inc. Hlm 87-115.
- Song W, X. Lu, Q. Feng. 2000. *Tumor Necrosis Factor-Alpha Induces Apoptosis Viainducible Nitric Oxide Synthase in Neonatal Mouse Cardiomyocytes Cardiovasc Res*; 45:595-602.
- Stapleton, P. A., A. G.Goodwill, M. E. James, R. W. Brock, J. Frisbee. 2010. Hypercholesterolemia and microvascular dysfunction: interventional strategies. *Journal of Inflammation*. 7:54.
- Susilaningsih, Neni. 2006. *CD Praktikum Histologi 1 Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro*. Diponegoro: Fakultas Kedokteran.
- Tambayong, J. 2000. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. ECG. Jakarta.
- Tapan, E. 2005. *Penyakit Degeneratif*. Alex Media Komputindo. Jakarta.
- Tisnadjaja, D., 2006, Bebas Kolesterol dan Demam Berdarah dengan Angkak, Penebar Swadaya, Jakarta, 8-22, 30-54, 63-87.13.
- Tomkin, G. H., and Daphne, O. 2012. *LDL as a Cause of Atherosclerosis*. Beacon Hospital and Trinity College Dublin 2. Ireland
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur, J. Telser. 2006. *Free Radical, Metal and Antioxidant in Oxidative Stress Induced Cencer*, J. Chem-Biol, edisi 160, p.1-10. Rusia.
- Wiyoto, H., M. A. M. Andriani, N. H. R. Parnanto. 2011. *Kajian Aktivitas Antioksidan dan Kadar Antikolesterol pada Angkak dengan Variasi Jenis Substrat (Beras, Jagung, Dan Gaplek)*. Biofarmasi. Vol. 9, No.2, pp. 38-44.
- Wresdiyati, T., dan M. Astawa. 2005. *Deteksi Secara Immunohistokimia, Antioksidan Dismutase (SOD) pada Jaringan Tikus Hiperkolesterolemia yang Diberi Pakan Rumput Laut*. [Laporan Penelitian]. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.